

Untersuchung zur Wirkung einer
zellspezifischen Substanz auf die
experimentell geschädigte Rattenleber

SYLVIA BERNIS

1962

Aus der Medizinischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. K. Ullrich

Untersuchung zur Wirkung einer
zellspezifischen Substanz auf die
experimentell geschädigte Rattenleber

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
SYLVIA BERNS
aus Hamburg



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Ullrich

Referent: Professor Dr. K. Ullrich

Tag der Promotion: 27. 7. 1962

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodisches	2
1. Fermentaktivität	2
2. Leberschädigung	6
3. Revitorgan	7
III. Experimente	10
1. Vorversuche mit Phosphoröl	11
2. Erster Hauptversuch	15
3. Vorversuche mit Tetrachlorkohlenstoff	31
4. Zweiter Hauptversuch	34
5. Signifikanzbetrachtung	45
IV. Betrachtung der Ergebnisse	49
V. Zusammenfassung	51
VI. Literaturverzeichnis	52



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG

Das Arbeitsgebiet der Zellulärtherapie liegt nach wie vor im Bereich wissenschaftlichen Meinungsstreites. Die Argumentation gegen die therapeutische Wirkung zellspezifischer Substanzen reicht etwa von der Klassifizierung als unspezifische Reiztherapie bis zur - ausschließlichen oder teilweisen - Rückführung auf psychogene Faktoren.

Eine prinzipielle Verifikation dieses auch theoretisch begründbaren Ansatzes dürfte durch humanmedizinische Kasuistik, die in großem Umfang bereits vorliegt, kaum möglich sein. Systematische, die beteiligten Faktoren scharf isolierende Tierversuche können in dieser Frage entscheidend - vor allem auch in grundsätzlicher Hinsicht - zur Klärung beitragen. Auf die Bedeutung und hoch zu veranschlagende Beweiskraft objektivierbarer und reproduzierbarer Wirkungen beim Tier hat u.a. ULLRICH (16) hingewiesen.

Die vorliegende Arbeit möchte im Rahmen dieser allgemeinen Problemstellung gesehen werden, wenngleich sie ein umschriebenes Teilgebiet zum Gegenstand hat.

FISCHER (5) untersuchte den Einfluß zytoplasmatischer Präparate auf toxische Leberschäden an Ratten und hielt die Wirkung in histologischen Schnitten fest. Als Ergebnis hält er die zytoplasmatische Therapie bei toxischer Schädigung der Leber für erfolgversprechend. Es stellt sich die Aufgabe, dieser dem Verfahren nach mehr qualitativen Beweisführung durch eine geeignete quantitative experimentelle Methodik eine auch statistisch zusichernde Grundlage zu geben.

II. METHODISCHES

Bei der Wahl des Ausgangsmaterials für unsere Untersuchungen lehnten wir uns wegen der späteren Vergleichbarkeit der Ergebnisse eng an FISCHER (5) an. Wir setzten Intoxikationen an Rattenlebern, und zwar 1. durch Phosphoröl (wie bei FISCHER), 2. durch Tetrachlorkohlenstoff. Zur Beeinflussung der so erzielten toxischen Schädigungen verwandten wir das zytoplasmatische Präparat Revitorgan.

Um eine möglichst komplette Quantifizierung des aufzufindenden Wirkungszusammenhanges zu erreichen, mußte ein zureichend differenzierender Indikator für die ablaufenden Prozesse gefunden werden. In den verschiedenen, mit metrischen Skalen arbeitenden Verfahren zur Fermentaktivitätsbestimmung schienen für unsere Zwecke geeignete Meßinstrumente gegeben. Es lassen sich damit erfassen 1. das intakte Organ (in Form von Normwerten) als Bezugspunkt, - 2. Grad der Schädigung, - 3. die Wirkung des Therapeutikums, sodaß durchgehende Meßwerte für alle von uns eingeführten Faktoren zur Verfügung stehen.

1. Fermentaktivität. Fermente sind Substanzen, die auf bestimmte Stoffe oder Stoffgruppen, die als Substrate bezeichnet werden, eine katalytische und spezifische Wirkung haben. Als funktionelle Bestandteile der Zellen katalysieren sie die Stoffwechselreaktionen, die die Funktion der jeweils spezifisch entwickelten Zellarten bestimmen. Die Funktionen der cellulären Fermente sind weitgehend bekannt. Über die physiologische Bedeutung der Plasma- bzw. Serumenzyme dagegen, mit Ausnahme der an der Blutgerinnung beteiligten Fermente, weiß man fast nichts. Nach BRUNS (2) scheint eine biologische Funktion der meisten Serumenzyme sehr zweifelhaft zu sein. Da ihnen die entsprechenden Co-Fermente und Substrate, wenigstens unter normalen Bedingungen, im Serum nicht zur Verfügung stehen, sind sie dort nicht funktionstüchtig. Nach HESS (6) sind die Konzentrationen der Fermentmengen im Serum außerordentlich klein. Nur etwa 0,5-0,8 % des gesamten Plasmaeiweißbestandes sind als Fermenteiweiß anzusehen. Da bei gesunden Organismen die Konzentrationen große Konstanz aufweisen, lassen erhebliche Abweichungen den Schluß auf pathologische Bedingungen zu. Die große praktische Bedeutung der Serumenzyme liegt also darin, daß charakteristische Schwankungen der Serumaktivitäten, d.h. Zunahme oder Abnahme der Fermentwirksamkeit des Serums, in

vielen Fällen bestimmten Erkrankungen zugeordnet werden können (BRUNS (2)).

So gibt es eine Vielzahl von Fermenten, deren Serumaktivität sich bei bestimmten Lebererkrankungen verändert. Als Beispiele seien genannt:

Serum — L-Glutaminat — Oxalacetat — Transaminase (SGOT),
Serum — L-Glutaminat — Pyruvat — Transaminase (SGPT),
Sorbit — Dehydrogenase (SDH),
Milchsäure — Dehydrogenase (MDH od. LDH),
Chininoxidase (ChO),
Fructose-1, 6-diphosphat — Aldolase (FDP — Aldolase),
L-Phosphofructaldolase (PFA),
alkalische Phosphatase.

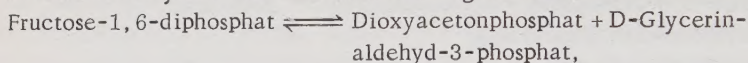
Wir wählten für unsere Experimente zwei Fermente, die nach dem gegenwärtigen Erfahrungsstand optimal geeignet schienen, eine Leberintoxikation in ihrem Verlauf zu bestimmen: die FDP — Aldolase und die SGPT. Beide Fermente - nach BRUNS (2) für Aldolase, nach LETTOW (10) für SGPT - reagieren sehr empfindlich auf Intoxikationen mit Tetrachlorkohlenstoff und zeigen nach Angabe der Fa. Boehringer synchron die akute Schädigung des Leberparenchyms an.

Der PFA wäre übrigens u. U. der Vorzug zu geben gewesen, da sie im normalen Serum überhaupt nicht vorkommt. Schwierigkeiten, die durch die recht große Erstreckung der Normbereiche sowohl bei der FDP — Aldolase wie auch bei der SGPT auftreten, lassen sich dadurch vermeiden (WOLF, FORSTER u. LEUTHARDT (18)). Der hier anzuwendende Test für die Aktivitätsbestimmung ist jedoch sehr teuer und außerdem noch verhältnismäßig wenig erprobt.

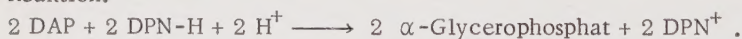
Aldolase - Test. - MEYERHOF und LOHMANN - nach BRUNS (2) - entdeckten das glykolytische Ferment Aldolase und isolierten die Reaktionsprodukte. Das Enzym ist in der Skelettmuskulatur, der Leber, den Erythrozyten, im Herzmuskel und - wenn auch in relativ geringer Menge - konstant im menschlichen und tierischen Serum enthalten. Der Aldolasegehalt im Serum ist bei verschiedenen Krankheiten stark erhöht. In der Leberdiagnostik spielt das Ferment insofern eine wichtige Rolle, als es sich bei der Virushepatitis stark vermehrt im Serum nachweisen läßt, während die Aktivität bei Stauungsikterus, chronischer Hepatitis und Lebercirrhose normal oder nur wenig erhöht,

bisweilen sogar erniedrigt ist. Der erhöhte Aldolasegehalt zeigt den toxischen Leberschaden an (BRUNS (4)) und ist unabhängig von dem entzündlichen Charakter der Krankheit. BRUNS (3) wies nach, daß die vermehrten Serumenzyme den geschädigten Leberzellen entstammen. Der Aldolasegehalt der Leber sinkt dabei. Für den Übergang des Ferments aus der Leberzelle in das Blutplasma ist das Konzentrationsgefälle zwischen Zelle und extrazellulärem Raum verantwortlich. Die Aktivitätsbestimmung der Aldolase zeigt den Zerfall von Leberzellen an. Sie ist keine eigentliche Funktionsprüfung. Schwerste Leberschäden können mit weitgehend intakter Funktion einhergehen.

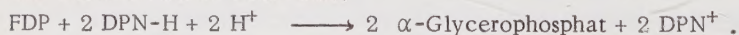
Aldolase katalysiert das reversible Gleichgewicht:



Zur Bestimmung der Aldolaseaktivität im Serum verwendeten wir das Testverfahren von SIBLEY und LEHNINGER in der Modifikation nach BRUNS. Es werden die pro Zeiteinheit aus FDP gebildeten Triosephosphate ermittelt. Man hydriert DAP enzymatisch (Glycerophosphatdehydrogenase = GDH) mit reduziertem Diphosphopyridinnucleotid (DPN-H) in der vollständig ablaufenden Reaktion:



Die Gesamtreaktion heißt also:



DPN-H dient als Meßgröße, sein Verbrauch ist proportional der gespaltenen Menge FDP.

Die Aldolaseaktivität wird in Einheiten einer metrischen Skala ausgedrückt. (Für die Messungen in diesen sog. optischen Tests benutzten wir das Eppendorf - Spektrophotometer.) Wir berechneten unsere Werte in Aldolaseeinheiten nach BRUNS (1), d. h. eine Einheit ist definiert als: 1 ml Serum spaltet pro Stunde bei 37°C 1 µl FDP, wobei 1 µl FDP = 0,0446 µ Mol FDP ist. Die notwendigen Reagenzien sind im Biochemica Test Boehringer⁺ enthalten.

SGPT - Test. - Im menschlichen Serum sind bisher zwei Transaminasen aufgefunden worden: die L-Glutaminat — Oxalat — Transaminase

+ Aldolase-Test. - Bestimmung der Aktivität der FDP-Aldolase im Serum (UV - Test mit DPN-H).

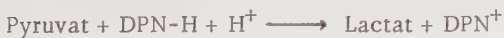
(GOT) und die L-Glutaminat — Pyruvat — Transaminase. Transaminasen sind Enzyme, welche die α -Aminosäure auf eine α -Ketosäure übertragen, wobei eine neue Aminosäure entsteht. Die Eigenschaften dieser Serumfermente sind von KARMEN, WROBLEWSKI und LA DUE - nach BRUNS (2) - beschrieben worden. Von den beiden Transaminasen hat die L-Glutaminat — Pyruvat — Transaminase die größere Leberspezifität. Sie kommt, außer in verhältnismäßig geringen Mengen im Serum, fast ausschließlich in der Leber vor und zeigt dementsprechend - wie oben bereits gesagt - extrem hohe Anstiege bei akuten Leberparenchymschäden, also auch bei Tetrachlorkohlenstoffvergiftungen. Bei chronische Hepatitis und Cirrhose finden sich normale oder wenig erhöhte Aktivitäten. Der Anstieg der Serumaktivität ist gebunden an den Zerfall von Leberzellen. Ebenso wie die Aldolase tritt die GPT bei Nekrose der Leberzellen aus diesen ins Serum über. Auch der SGPT-Test ist also keine eigentliche Funktionsprobe, sondern sagt etwas über den Grad des Leberzerfalls aus.

Von besonderer differentialdiagnostischer Bedeutung ist nach HORN und AMELUNG (7) die Parallelbestimmung der GOT-, GPT- und LDH - Aktivität im Serum. Es werden für verschiedene Erkrankungen der Leber bestimmte Gesetzmäßigkeiten in der Relation zwischen den Aktivitäten dieser Enzyme angegeben, die im GOT/GPT/LDH-Quotienten zum Ausdruck kommen.

Das Enzym GPT katalysiert die Gleichgewichtsreaktion:



Die SGPT-Aktivität kann gleichfalls mit einem optischen Test gemessen werden. Die zeitliche Zunahme des entstehenden Pyruvats stellt den Maßstab für die Höhe der Enzymaktivität dar. Das Pyruvat wird in der gekoppelten, durch LDH katalysierten "Indikatorreaktion" bestimmt.



(DPN-H = reduz. Diphosphopyridinnucleotid, DPN^+ = Diphosphopyridinnucleotid). Der DPN-H-Verbrauch ist proportional der gebildeten Pyruvatmenge und damit Meßgröße.

Wir legten bei unseren Versuchen der Messung der SGPT-Aktivität die Skala von WROBLEWSKI und LA DUE (19) zugrunde, bei der eine Einheit definiert ist als die Transaminasemenge in 1 ml Serum, die bei 23°C im 3 ml-Ansatz die DPN-H-Extinktion bei 340 m μ in 1 Minute um 0,001 ändert. Die notwen-

digen Reagenzien sind im Biochemica Test Boehringer⁺ enthalten.

2. Leberschädigung. Ein Leberschaden kann durch die Giftwirkung verschiedener Stoffe gesetzt werden. Gut geeignet sind die starken Lebergifte Tetrachlorkohlenstoff und Phosphor.

Phosphor bewirkt eine fettige Degeneration der Leber. Die Parenchymzellen werden geschädigt, können das zugeführte Fett nicht mehr verarbeiten, und die Fettkörnchen lagern sich in klein- und großtropfiger Form ab. Nach FISCHER (5) beginnt die Verfettung an der Peripherie der Lobuli und dehnt sich allmählich auf die ganzen Lobuli aus. Im Extremfall erscheint die Leber safrangelb. Durch regressive Verfettung kommt es schließlich zum Zelluntergang.

Bei Tetrachlorkohlenstoffvergiftung erscheint die Leber makroskopisch stark vergrößert, fleckig getönt, zeigt deutliche, leicht eingesunkene Venenzeichnungen der Oberfläche und Granulierungen. Histologisch zeigen sich stark ausgeprägte zentrale Kollapsherde mit wechselnd breiter hydropisch-degenerierter Zone (HÖTZL und LAUDAHN (8)).

Die Leber gehört zu den Organen, bei denen eine Wiederherstellung von verändertem oder geschädigtem Gewebe, im Sinne einer echten Regeneration, möglich ist. Es findet sich daher auch bei Setzung verhältnismäßig starker Leberschäden nach 1-2 Monaten ein normales histologisches Bild (HÖTZL und LAUDAHN (8)).

Wir benutzten im ersten Hauptversuch Phosphoröl (Phosphor in Olivenöl) in Anlehnung an FISCHER (5), der für seine Versuche 1%iges Phosphoröl verwendete.

Da das von uns aus einer Apotheke bezogene 1%ige Phosphoröl keinerlei Wirkung zeigte, ließen wir eine 2%ige Lösung herstellen. Mit dieser führten wir die Vorversuche aus. Da sich zeigte, daß gegen Ende der jeweiligen Versuche die Wirkung des Phosphoröls stark abgeschwächt war, mußte es häufiger durch eine frische Anfertigung ersetzt werden. Außerdem ist die Herstellung einer 2%igen Lösung langwierig und nicht ungefährlich. Die herstellende Apotheke weigerte sich bald, die weitere

+ SGPT-Test. - Bestimmung der Aktivität der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (UV-Test mit DPN-H).

Anfertigung zu übernehmen. Das 2%ige Phosphoröl, das wir dann freundlicherweise vom Pharmakologischen Institut der Tierärztlichen Fakultät zur Verfügung gestellt bekamen, erwies sich jedoch als weit- aus wirkungsstärker als das aus der Apotheke bezogene. Es leuchtete bereits stark bei Öffnen der Flasche, und die mit dieser Lösung behan- delten Ratten starben ausnahmslos einige Stunden nach der Injektion. Nach Rücksprache mit dem Pharmakologischen Institut verdünnten wir das Phosphoröl auf die Hälfte, also zu einer 1%igen Lösung. Mit dieser erzielten wir etwa gleiche Wirkungen wie mit dem anfangs verwen- deten 2%igen Phosphoröl aus der Apotheke. Der Hauptversuch wurde mit dieser Lösung durchgeführt. (Die Unstimmigkeit läßt sich u. E. nur dadurch erklären, daß in der Apotheke die vollständige Lösung des Phosphors nicht abgewartet wurde, und es sich dementsprechend bei der als 2%ig angegebenen Lösung um eine nur 1%ige, bei der als 1%ig angegebenen dagegen um eine 0,5%ige handelte.)

Im zweiten Hauptversuch wurde Tetrachlorkohlenstoff - 1 g gelöst in 1 ccm Olivenöl - verwendet. Diese Lösung wurde in unserer hauseigenen Apotheke hergestellt.

3. Revitorgan. Die als "Revitorgan" bezeichneten Präparate (Her- steller: Vitorgan - GmbH., Pharm. Präparate, Stuttgart) werden aus aufge- schlossenen, sterilisierten und gefriergetrockneten Organvollsubstanzen herge- stellt.

In den letzten Jahren ist nachgewiesen worden, daß bei der sog. Zellular- therapie nicht die ganzen Zellen in ihrer morphologischen und mikroskopi- schen Struktur zur Wirkung kommen, sondern deren makromolekulare Bestand- teile in Form der bei der Zerkleinerung der Organe entstehenden mitinjizier- ten Zelltrümmer (THEURER (14)). So konnte LETTRE (11) zeigen, daß die Mitoseaktivität bei Injektionen von zellfreien Homogenisaten eindeutig gesteig- ert wird. Es können mit Zellbestandteilen also die gleichen Effekte erzielt werden wie mit ganzen Zellen. Die durch diese Erkenntnis entstandene Thera- pie bezeichnet THEURER als "zytoplasmatische Therapie". Nachteile der Zellulartherapie, wie Überempfindlichkeitsreaktionen des Körpers auf die bei der Spaltung und Denaturierung der Zellbestandteile entstehenden Abbaupro- dukte, die als sog. Belastungsphase zum Ausdruck kommen, treten hierbei nicht auf. Nach THEURER (14) wirken die zellspezifischen Substanzen sowohl als Antigen über die Bildung von Auto-Antikörpern, die sich gegen gleicharti-

ge Zellbestandteile des Organismus richten und in diesen Zellen die Stoffwechselvorgänge des strukturellen Umbaus anregen, als auch als Schablonen für eine autokatalytische Erneuerung von defekten Strukturen. Da die zugeführte Menge an Organsubstanz sehr klein ist, kann die Möglichkeit einer Substitution ausgeschlossen werden. Zu der spezifischen Wirkung tritt die wesentlich geringere Wirkung von organ-unspezifischen Zellbestandteilen hinzu, die sich auf den gesamten Organismus erstreckt. Unabhängig von der Spezifität der Organsubstanz verlaufen noch neurale Vorgänge und stress-Mechanismen und üben eine Rückwirkung auf die spezifischen Mechanismen aus. Zur Veranschaulichung soll das Schema nach THEURER (15) dienen (s. Abb. 1).

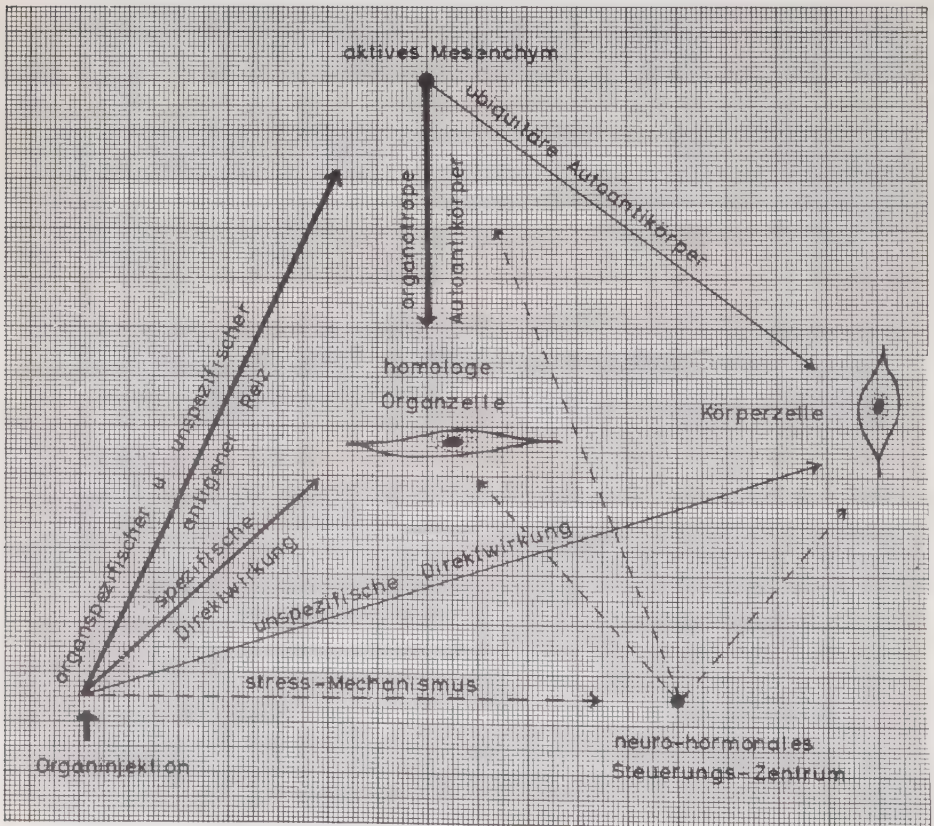


Abb. 1

Daß es sich bei der zytoplasmatischen Therapie tatsächlich um spezifische Wirkungen handelt und nicht, wie so oft eingewandt wird, um eine unspezifische Eiweißtherapie, hat MARSHAK - nach LETTRE (11) - gezeigt. Er arbeitete mit regenerierender Rattenleber und konnte zeigen, daß Injektionen von Chromatin aus Rattenleber das Wachstum und die Teilung der Leberzellen beschleunigt. Durch Verwendung von mit radioaktivem Phosphat markiertem Chromatin wies er das injizierte Material in den Chromosomen der Leberzellen nach.

Die Revitorgan-Trockensubstanzen werden hergestellt aus Organen gesunder Jungtiere und Foeten, in erster Linie von Rind und Schaf. Es kommen die Bestandteile des strukturierten Protoplasmas - Nucleinsäure, Nucleoproteide, Lipoproteide und Polysaccharide - zur Anwendung. Sie sind nach THEURER ein Spezifikum zur Revitalisierung und Regeneration dysthetischer Organzellen. Um eine gute Verträglichkeit zu gewährleisten und allergische Reaktionen zu vermeiden, wird das in den Geweben enthaltene Blut beseitigt. Die Revitorgan-Trockensubstanzen umfassen sowohl Präparate aus homologen Organen als auch Mischpräparate aus Organkombinationen.

Wir verwendeten das Mischpräparat Revitorgan Nr. 63, das nach FISCHER (5) die stärkste Wirkung bei Leberintoxikation hat. Die Bestandteile sind: Niere, Herz, Aorta, Leber, Milz, Pankreas, Nebenniere, Schilddrüse. Zur Aufschwemmung der Trockensubstanz verwendeten wir das vorgeschriebene Lösungsmittel Stärke II, das aus Aluminiumhydroxyd und Kieselsäure besteht.

III. EXPERIMENTE

Ziel der Experimente im Sinne der oben skizzierten Problemstellung ist, durch geeignete systematische Versuche die angenommene Wirksamkeit des zytoplasmatischen Präparats Revitorgan Nr. 63 in Form von Fermentaktivitätsänderungen sichtbar zu machen. Die speziell gestellte Frage lautet: inwieweit ist Revitorgan als Therapeutikum in der Lage, einen toxischen Leberparenchymschaden zu beheben, abzuschwächen, eine Verstärkung der Intoxikation zu unterbinden oder gar das Entstehen einer Schädigung zu verhindern.

Da die Leber auch ohne therapeutischen Eingriff u. U. nach einer Intoxikation vollständig regenerieren kann, mußte stets mit zwei parallel untersuchten Tiergruppen gearbeitet werden. D.h. auf der einen Seite Tiere, denen sowohl Gift als auch Revitorgan gegeben wird (im folgenden als "Versuchstiere" bezeichnet), - auf der anderen Seite Tiere, die nur Gift erhalten ("Kontrolltiere"). Der Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen kann dann als Wirkungsindikator für das Revitorganpräparat dienen. Im Falle erheblicher, d.h. gesicherter Differenzen dürfte dafür allein das Therapeutikum verantwortlich gemacht werden.

Es wurden weiße Ratten verwendet, die einer einheitlichen Zucht entstammten⁺. Das Körpergewicht zum Zeitpunkt des Versuchs betrug 150-200 g. Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen gehalten. Fütterung: Presslinge und Haferflocken, Wasser in beliebiger Menge. Nach männlichen und weiblichen Ratten trennten wir nicht, da zumindest für Aldolase nach BRUNS (1) keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich der Enzymaktivität beobachtet werden konnten.

Um die Versuchsanordnung für die Hauptversuche festzulegen, waren zunächst in Vorversuchen technische Probleme zu lösen und eine allgemeine Übersicht über die zu erwartende Höhe der Fermentaktivitätswerte - vom Normbereich bis zu mehr oder weniger starker Erhöhung durch den Untergang von Leberzellen bei Intoxikation - zu erreichen.

⁺ Die Tiere wurden von der Fa. Gassner, München bezogen. Es wurde ausschließlich mit diesen und der Nachkommenschaft gearbeitet.

1. Vorversuche mit Phosphoröl

Blutentnahme. - Für die Durchführung des Aldolase- und des SGPT-Tests wird in jedem Einzelversuch (Untersuchung einer Ratte) insgesamt 1,2 ml Blutserum benötigt. Um die entsprechende Blutmenge (2-3 ccm) zu erhalten, boten sich zwei Wege an: Herzpunktion oder Entbluten. Da wir die Möglichkeit zu mindestens zweimaliger Untersuchung eines Tieres offenhalten wollten, entschieden wir uns für die Herzpunktion. Es wurden dabei Ganzglasspritzen verwendet. Das Blut wurde in paraffinierten Gläsern der Spontan-gerinnung überlassen.

Narkose. - Zur Entscheidung der Frage, ob die Punktion zweckmäßigerweise unter Narkose vorzunehmen war oder nicht, maßen wir die Aldolaseaktivität von je drei Tieren (s. Tab. 1). Durch Bewegungen der Tiere (heftiges Zappeln) wurde die Punktion erschwert. Das von den nicht narkotisierten Tieren gewonnene Serum war hämolytisch, worauf die höheren Werte

Aldolase-Werte			
Ohne Narkose	97	98	100
Mit Narkose	39	50	55

Tab. 1

zurückzuführen sind. Laut BRUNS (1) enthalten Erythrozyten wesentlich mehr Aldolase als das Serum. Es muß daher selbst eine geringgradige Hämolyse streng vermieden werden. Wir arbeiteten aus diesen Gründen durchgängig mit Narkotisierung. Die Narkose wurde mit Äther unter einem Glastrichter erreicht.

Serumverdünnung. - Es gelang nicht bei allen Tieren, bei der Punktion die notwendige Blutmenge von mindestens 2 ccm zu gewinnen. Um in den Versuchen auch in diesen Fällen eine Auswertung zu ermöglichen, mußte die Frage beantwortet werden, ob eine Verdünnung des Serums z. B. im Verhältnis 1:1 die Fermentaktivitätswerte verändert. Nach Angabe der Fa. Boehringer ist eine Verdünnung von 1:5 bis 1:10 prinzipiell möglich und sogar erforderlich bei sehr hohen, sonst nicht mehr meßbaren Aktivitäten. Die vergleichende Untersuchung von unverdünntem und im Verhältnis 1:1 verdünntem Serum ergab für jeweils drei Tiere die in Tab. 2 (s. S. 12) enthaltenen Werte.

	Serum verdünnt			Serum unverdünnt		
Aldolase-Werte	37	55	69	42	50	55
SGPT-Werte	28	28	32	26	28	28

Tab. 2

Nach diesem Ergebnis darf vermutet werden, daß eine Serumverdünnung auch bei geringen Aktivitäten keine wesentliche Beeinträchtigung der Meßwerte zur Folge hat. Im übrigen haben wir im Verlauf der Untersuchung nur in Einzelfällen von dieser Methode Gebrauch machen müssen, und auch dann nur für den SGPT-Test, für den eine größere Serummenge benötigt wird.

Normwerte. - Um aus den gemessenen Fermentaktivitätswerten Rückschlüsse auf die Ausdehnung des Leberzerfalls ziehen zu können, war es notwendig, die Normbereiche von Aldolase und SGPT abzugrenzen. Aus den in Tab. 3 aufgeführten Werten, gemessen an Serumproben gesunder Tiere, wurde der jeweilige durchschnittliche Normwert, der wegen der geringen Zahl der

Tier Nr.	Aldolase-Werte	Tier Nr.	Aldolase-Werte
1	37	8	54
2	38	9	55
3	39	10	55
4	42	11	55
5	46	12	59
6	47	13	63
7	54	14	69

Tab. 3a

Tier Nr.	SGPT-Werte
1	18
2	19
3	22
4	25
5	26
6	26
7	28
8	28
9	32

Tab. 3b

Werte natürlich nur eine Annäherung darstellt, berechnet. Durchschnittlicher Normwert für Aldolaseaktivität: 51 (kleinster Wert: 37, größter Wert: 69). Für

die SGPT-Aktivität: 25 (kleinster Wert: 18, größter Wert: 32). Das Ergebnis für Aldolase entspricht etwa dem von BRUNS (1), der bei einer Anzahl von 8 Ratten einen Durchschnittswert von 44 erhielt, wobei sich der Bereich von 28 - 65 erstreckte.

Intoxikationsverlauf. - BRUNS (4) erhielt bei mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Mäusen maximale Aktivitätswerte nach 18-20 Stunden. Dann folgte ein steiler Abfall, und nach 48 Stunden traten bereits fast normale Werte auf. Um den günstigsten Zeitraum für die Untersuchung post intoxicationem zu ermitteln, setzten wir einen entsprechenden Versuch mit Phosphoröl an. 15 Tieren wurden 0,2 ccm Phosphoröl - Dosierung von FISCHER (5) - subcutan mit Tuberkulinspritzen injiziert. Innerhalb von 20 Stunden starben davon 8 Tiere. Von den überlebenden 7 Ratten, die alle eine starke Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens zeigten, untersuchten wir 2 nach 24 Stunden, 3 nach 46 Stunden, 2 nach 68 Stunden. Die Aktivitätswerte sind in Tab. 4 zusammengestellt. Außerdem stellten wir mittels Ikto-Farbstest⁺ den Bilirubingehalt im Harn fest. Einmal war damit ein weiterer Indikator für den Grad des Leberschadens gegeben, zum anderen könnte der Vergleich mit den Aldolase- und SGPT-Werten etwas über Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit der Fermentaktivitätsbestimmung aussagen. Die Befunde der Bilirubinprobe sind in Tab. 4 mit aufgenommen worden.

Zeit p. intox.	Aldolase	SGPT	Bilirubin
24 Std.	106	29	negativ
	176	57	negativ
46 Std.	287	189	Spuren
	291	113	Spuren
	610	199	Spuren
68 Std.	134	47	negativ
	439	98	positiv

Tab. 4

+ Für Zweifelsfälle, d.h. wenn eine Bilirubinurie zu erwarten, aber mit dem Ikto-Test nicht festzustellen war, stand die Gmelin'sche Probe zur Verfügung.

Im Gegensatz zu dem Ergebnis von BRUNS für Tetrachlorkohlenstoff sind die Aktivitätswerte bei Verwendung von Phosphoröl auch 3 Tage post intoxicationem noch stark erhöht. Auf diesen Zeitraum sollten sich die Versuche zweckmäßigerweise erstrecken.

Dosierung. - Aus dem eben beschriebenen Versuch ließ sich entnehmen, daß die Phosphoröldosis (0,2 ccm) zu hoch gewählt war, da die Hälfte der Tiere einging. Die Werte zeigen außerdem starke Schwankungen untereinander, die durch das unterschiedliche Körpergewicht der Ratten hervorgerufen worden sein könnten. In drei Dosierungsversuchen berücksichtigten wir auch das Körpergewicht.

Es erhielten: 1.) 4 Tiere - 0,05 ccm Phosphoröl pro 100 g KG
2.) 4 Tiere - 0,075 ccm Phosphoröl pro 100 g KG
3.) 4 Tiere - 0,1 ccm Phosphoröl pro 100 g KG

Die Fermentaktivitätsbestimmung erfolgte 4 Tage post intoxicationem.

- Zu 1.) Alle Ratten überlebten die Intoxikation. Ihr Allgemeinbefinden schien normal.
- 2.) Ein Tier verendete 2 Tage post intoxicationem. Die übrigen schienen ruhiger als normal (häufiges Hocken in den Ecken).
- 3.) 2 Tiere starben innerhalb 24 Std. post intoxicationem. Die übrigen hatten struppiges Fell und bewegten sich kaum.

Die Werte zu diesen Versuchen sind aus Tab. 5 ersichtlich.

Dosierung pro 100 g KG	Aldolase	SGPT	Bilirubin
0,050 ccm	142	27	negativ
	101	32	negativ
	138	28	negativ
	122	37	negativ
0,075 ccm	302	115	positiv
	183	57	negativ
	474	302	positiv
0,100 ccm	1117	359	positiv
	311	127	positiv

Tab. 5

Aus den Versuchen ergibt sich: Die Dosierung 0,05 ccm ist zu niedrig gewählt, da in keinem Fall eine Bilirubinurie auftritt. Bei der Dosis 0,1 ccm ist ein zu großer Tierverlust zu erwarten. Uns schien die Dosis 0,075 ccm pro 100 g Körpergewicht für den Hauptversuch am besten geeignet zu sein.

2. Erster Hauptversuch

Die Versuchsanordnung für den Hauptversuch mit Phosphoröl wurde entsprechend den Erfahrungen der unter III, 1 (S. 11 - 15) abgehandelten Vorversuche festgelegt. Vgl. dazu auch S. 10. Die Dosierung der Revitorgangabe nahmen wir in Anlehnung an FISCHER (5) vor.

Es wurden insgesamt 56 Ratten (28 Versuchstiere, 28 Kontrolltiere) untersucht. Aus technischen und organisatorischen Gründen bildeten wir 6 Gruppen von je 8 - 10 Tieren, von denen jeweils eine Hälfte als Kontrollgruppe diente. Die Gruppen wurden unter gleichen Bedingungen gehalten und untersucht, sodaß sie zusammengefaßt als ein Versuch behandelt werden durften.

Das Phosphoröl wurde nach Körpergewicht der Ratten (0,075 ccm pro 100 g KG) dosiert und sc. injiziert, - das Revitorganpräparat Nr. 63 wurde unter Verwendung des Lösungsmittels Stärke II in der Dosis 0,4 ccm i.m. gegeben. Die Revitorgangabe wurde von allen Versuchstieren gut vertragen. Es zeigten sich weder Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens noch lokale Reaktionen. Nach der Phosphorölinjektion ließ bei einigen Tieren für kurze Zeit die Lebhaftigkeit nach.

Jeder Gruppenversuch lief über 4 Tage:

1. Versuchstag: Phosphorölinjektion
2. Versuchstag: Erste Fermentaktivitätsuntersuchung. Danach wird Versuchstieren Revitorgan injiziert.
3. Versuchstag: ---
4. Versuchstag: Zweite Fermentaktivitätsuntersuchung. Bilirubingehalt im Harn wird geprüft.

Sämtliche Versuchsdaten der Einzeltiere aus den Gruppen I - VI sind in den Tabellen 6 - 17 (S. 17 - 22) zusammengestellt. Von jedem Tier liegen also 4 Aktivitätswerte vor: je ein Aldolase- und ein SGPT-Wert aus jeder Untersuchung.

Die vergleichende Betrachtung der innerhalb der Gruppen errechneten und in die Tabellen aufgenommenen Mittelwerte (= D) zeigt bereits, daß die Fermentaktivitätswerte von der I. zur II. Untersuchung ansteigen, und zwar sowohl bei den Versuchstieren als auch bei den Kontrolltieren⁺. Es tritt jedoch auch die Tendenz überaus deutlich hervor, daß die Kontrolltiere erheblich höhere Werte erreichen als die Versuchstiere, die unter der Wirkung des Revitorganpräparats stehen. In 4 Fällen (Aldolase-Werte) bzw. in 3 Fällen (SGPT-Werte) ist bei den Versuchstieren sogar ein Absinken der Fermentaktivität von der I. zur II. Untersuchung zu beobachten.

Weiter ist festzuhalten, daß von den insgesamt 28 Versuchstieren 11 verendeten, gegenüber immerhin 16 von 28 Kontrolltieren. Mit der Interpretation muß man hier jedoch vorsichtig sein, da manche Tiere auch bei der Herzpunktion durch Herztamponade oder Verbluten in die Brusthöhle zugrundegingen.

+ An den Mittelwerten wird ein systematischer Fehler sichtbar, der dadurch auftaucht, daß wir leider nicht in der Lage waren, den Zeitpunkt der Untersuchungen auf die Stunde genau konstant zu halten; so fand die I. Untersuchung zwischen 20 und 30 Stunden nach der Phosphorölinjektion statt. Die auftretenden Abweichungen heben sich jedoch so weitgehend gegeneinander auf, daß sie vernachlässigt werden dürfen.

GRUPPE I

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
1	160 g	0,120	43	25	303	57	2. Tag	positiv
2	180 g	0,135	67	28	-	-		-
3	170 g	0,130	200	47	40	26		negativ
4	190 g	0,140	49	28	174	47		Spuren
			D= 89,8	D= 32,0	D=172,3	D= 43,4		

Tab. 6

(Versuchstiere: Durchführung der Versuche vom 24.4.61 - 27.4.61)

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
1	170 g	0,130	32	28	275	109	2. Tag	positiv
2	160 g	0,120	50	28	-	-		-
3	180 g	0,135	63	30	1002	646		positiv
4	180 g	0,135	116	35	-	-	3. Tag	-
5	170 g	0,130	46	25	-	-	2. Tag	-
			D= 61,4	D= 29,2	D=638,5	D=377,5		

Tab. 7

(Kontrolltiere: Durchführung der Versuche vom 25.4.61 - 28.4.61)

GRUPPE II

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
5	180 g	0,135	37	23	385	210	6. Tag	positiv
6	170 g	0,130	69	28	-	-	2. Tag	-
7	190 g	0,140	30	25	117	47		negativ
8	180 g	0,135	58	24	285	98	5. Tag	Spuren
			D= 48,5	D= 25,0	D=262,3	D=118,3		

Tab. 8

(Versuchstiere: Durchführung der Versuche vom 1.5.61 - 4.5.61)

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
6	190 g	0,140	113	50	280	128		positiv
7	180 g	0,135	33	26	263	147		positiv
8	200 g	0,150	49	28	914	312	5. Tag	positiv
9	180 g	0,135	63	25	298	102	5. Tag	positiv
10	180 g	0,135	52	24	-	-	2. Tag	-
			D= 62,0	D= 30,6	D=438,8	D=172,3		

Tab.9

(Kontrolltiere: Durchführung der Versuche vom 2.5.61 - 5.5.61)

GRUPPE III

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
9	170 g	0,130	84	25	149	28		negativ
10	170 g	0,130	138	47	70	45		negativ
11	180 g	0,135	96	47	134	57		negativ
12	170 g	0,130	122	35	101	47		negativ
13	160 g	0,120	134	57	-	-	2. Tag	-
			D=114,8	D= 42,2	D=113,5	D= 44,3		

Tab. 10

(Versuchstiere: Durchführung der Versuche vom 12.5.61 - 15.5.61)

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
11	160 g	0,120	77	28	186	57		negativ
12	160 g	0,120	110	44	260	162	4. Tag	positiv
13	180 g	0,135	98	35	-	-	2. Tag	-
14	200 g	0,150	88	40	216	136		positiv
15	180 g	0,140	142	47	964	433	4. Tag	positiv
			D=103,0	D= 38,8	D=406,5	D=197,0		

Tab. 11

(Kontrolltiere: Durchführung der Versuche vom 13.5.61 - 16.5.61)

GRUPPE IV

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
14	160 g	0,120	80	28	192	56		negativ
15	160 g	0,120	63	30	150	52		negativ
16	180 g	0,135	109	24	210	47		Spuren
17	190 g	0,140	93	28	-	-	2. Tag	-
18	170 g	0,130	128	28	146	45	4.Tag	negativ
			D= 94,6	D= 27,6	D=174,5	D= 50,0		

Tab. 12

(Versuchstiere: Durchführung der Untersuchung vom 10.6.61 - 13.6.61)

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
16	170 g	0,130	67	27	-	-	2. Tag	-
17	160 g	0,120	96	34	296	178		positiv
18	170 g	0,130	92	28	-	-	2. Tag	-
19	180 g	0,135	109	37	682	327		positiv
			D= 91,0	D= 31,5	D=244,5	D=252,5		

Tab. 13

(Kontrolltiere: Durchführung der Untersuchung vom 11.6.61 - 14.6.61)

GRUPPE V

			I. Untersuchung		II. Untersuchung			
Tier Nr.	Körpergewicht	Dosis (ccm)	Aldolase-Werte	SGPT-Werte	Aldolase-Werte	SGPT-Werte	Exitus	Bilirubin
19	190 g	0,140	99	32	139	62	3. Tag	negativ
20	210 g	0,160	97	35	-	-		
21	180 g	0,135	54	22	-	-	3. Tag	Spuren
22	200 g	0,150	84	25	196	119		
23	200 g	0,150	94	37	147	45		
			D= 85,6	D= 30,2	D=160,7	D= 75,3		

Tab. 14

(Versuchstiere: Durchführung der Versuche vom 20.6.61 - 23.6.61)

Tier Nr.	Körper- gewicht	Dosis (ccm)	I. Untersuchung		II. Untersuchung		Exitus	Bilirubin
			Aldolase- Werte	SGPT- Werte	Aldolase- Werte	SGPT- Werte		
20	180 g	0,135	61	20	502	280	4. Tag	positiv
21	200 g	0,150	103	37	-	-	2. Tag	-
22	200 g	0,150	46	22	483	340		positiv
23	170 g	0,130	84	34	122	123		Spuren
24	180 g	0,135	68	28	-	-	2. Tag	-
			D= 72,4	D= 28,2	D=369,0	D=247,7		

Tab. 15

(Kontrolltiere: Durchführung der Versuche vom 21.6.61 - 24.6.61)

GRUPPE VI

			I. Untersuchung		II. Untersuchung			
Tier Nr.	Körpergewicht	Dosis (ccm)	Aldolase-Werte	SGPT-Werte	Aldolase-Werte	SGPT-Werte	Exitus	Bilirubin
24	180 g	0,135	64	28	104	39	2. Tag	negativ
25	190 g	0,140	300	198	-	-		-
26	170 g	0,130	61	25	70	38		negativ
27	180 g	0,135	145	57	99	26		negativ
28	170 g	0,130	142	57	1095	414	4.Tag	positiv
			D=142,4	D= 73,0	D=342	D=129,3		

Tab. 16

(Versuchstiere: Durchführung der Versuche vom 5.7.61 - 8.7.61)

			I. Untersuchung		II. Untersuchung			
Tier Nr.	Körpergewicht	Dosis (ccm)	Aldolase-Werte	SGPT-Werte	Aldolase-Werte	SGPT-Werte	Exitus	Bilirubin
25	190 g	0,140	93	37	459	291	2. Tag	positiv
26	160 g	0,120	122	47	153	113		Spuren
27	170 g	0,130	153	55	-	-		-
28	170 g	0,130	145	44	-	-	3. Tag	-
			D=128,3	D= 45,8	D=306,0	D=202,0		

Tab. 17

(Kontrolltiere: Durchführung der Versuche vom 6.7.61 - 9.7.61)

Die Erwartung eines systematischen Unterschieds zwischen Versuchs- und Kontrolltieren wird verstärkt durch die am 4. Versuchstag erfolgte Bilirubinprobe (s. Tab. 18). Das Ergebnis bestätigt die Resultate von FISCHER (5), der allerdings erst nach 10 - 12 Tagen einen positiven Bilirubinspiegel im Harn vorfand.

Bilirubin- probe	Anzahl d. Versuchs- tiere	Anzahl d. Kontroll- tiere
negativ	14	1
Spuren	4	2
positiv	3	14

Tab. 18

Die oben angeführten Mittelwerte bilden zwar den - wie sich zeigen wird: tatsächlichen - Unterschied zwischen Versuchstieren und Kontrolltieren recht gut ab, ihr Aussagewert ist an sich jedoch äußerst gering. Einige der im Verlauf unserer Untersuchung immer mitberechneten Durchschnittswerte weisen eine Streuung von mehr als 100 % auf! die statistische Sicherung der Differenzen, die die Kriterien für den therapeutischen Erfolg der zellspezifischen Substanz darstellen, konnte hier nicht ansetzen. Vgl. dazu später auch Abschnitt III, 5 (S. 45 ff.).

Wir faßten somit die Aktivitätswerte aller Versuchs- und Kontrolltiere der Gruppen I - VI zusammen und stellten sie in einer für die statistische Bearbeitung wie für die graphische Darstellung brauchbaren Anordnung einander gegenüber. In Tab. 19, S. 24 sind in diesem Sinne die Aldolase-Werte, in Tab. 20, S. 25 die SGPT-Werte aufgeführt. Die Werte sind nach Größe aufsteigend geordnet.

Diejenigen der I. Untersuchung sind fortlaufend numeriert. Um den Aktivitätswert, den ein bestimmtes Tier aus der I. Untersuchung in der II. Untersuchung zeigt, aufzufinden, sind den Werten der II. Untersuchung die entsprechenden Rangnummern der I. Untersuchung beigegeben.

Wo ein (+) in der Tabelle erscheint, ist das zugehörige Tier zwischen I. und II. Untersuchung verwendet.

Mit dem ersten (= niedrigsten) und letzten (= höchsten) Wert jeder Reihe ist der Erstreckungsbereich auf der Fermentaktivitätsskala gegeben.

ALDOLASE-WERTE							
I. Untersuchung				II. Untersuchung			
Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere	Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere
1	30	1	32	26	40	14	122
2	37	2	33	7	70	25	153
3	43	3	46	24	70	13	186
4	49	4	46	25	99	15	216
5	54	5	49	21	101	22	260
6	58	6	50	9	104	2	263
7	61	7	52	1	117	1	275
8	63	8	61	17	134	23	280
9	64	9	63	19	139	18	296
10	67	10	63	22	146	10	298
11	69	11	67	16	147	17	459
12	80	12	68	13	149	4	483
13	84	13	77	8	150	8	502
14	84	14	84	4	174	21	682
15	93	15	88	12	192	5	914
16	94	16	92	14	196	26	964
17	96	17	93	20	210	9	1002
18	97	18	96	6	285	3	+
19	99	19	98	3	303	6	+
20	109	20	103	2	385	7	+
21	122	21	109	5	+	11	+
22	128	22	110	10	+	12	+
23	134	23	113	11	+	16	+
24	138	24	116	15	+	19	+
25	145	25	122	18	+	20	+
26	200	26	142	23	+	24	+
27	300	27	145	27	+	27	+
		28	153			28	+
D = 96,2		D = 84,7		D = 160,6		D = 432,7	

Tab. 19

SGPT - WERTE							
I. Untersuchung				II. Untersuchung			
Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere	Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere
1	22	1	20	22	26	11	57
2	23	2	22	26	26	5	102
3	24	3	24	7	28	8	109
4	24	4	25	9	38	26	113
5	25	5	25	16	39	16	123
6	25	6	26	23	45	27	128
7	25	7	27	15	45	22	136
8	25	8	28	21	45	6	147
9	25	9	28	11	47	23	162
10	28	10	28	6	47	15	178
11	28	11	28	19	47	1	280
12	28	12	28	4	47	21	291
13	28	13	28	17	52	10	312
14	28	14	30	13	56	19	327
15	28	15	34	24	57	2	340
16	28	16	34	5	57	25	433
17	30	17	35	18	62	14	646
18	32	18	35	3	98	3	+
19	35	19	37	8	119	4	+
20	35	20	37	2	210	7	+
21	37	21	37	1	+	9	+
22	47	22	40	10	+	12	+
23	47	23	44	12	+	13	+
24	47	24	44	14	+	17	+
25	57	25	47	20	+	18	+
26	57	26	47	25	+	20	+
27	198	27	50	27	+	24	+
		28	55			28	+
D = 38,4		D = 33,7		D = 59,6		D = 228,5	

Tab. 20

Vergleicht man in dieser Weise Versuchs- und Kontrolltiere und nimmt die entsprechenden Durchschnittswerte, die wir in die Tabellen aufgenommen haben, hinzu, so treten die auf das Revitorganpräparat zurückgehenden Unterschiede wiederum klar vor Augen.

Das in Tab. 16, S. 22 unter der Nr. 28 erscheinende Tier wurde aus reinen Darstellungsgründen wegen seiner extremen Aktivitätswerte von der weiteren Betrachtung ausgeschlossen. Die Werte sind jedoch in die Signifikanzbetrachtungen mit einbezogen worden, ihr Wegfall "verschönert" das Ergebnis sachlich in keiner Weise.

Zur Veranschaulichung haben wir die Wertereihen, ihrem Aufbau in der tabellarischen Übersicht entsprechend, aufsteigend nach Größe in Koordinatensystemen graphisch dargestellt (s. Abb. 2, 3, 4 und 5, S. 27, 28, 29 und 30). An den Kurven wird sehr schön sichtbar der steile Anstieg der Aktivitätswerte der Kontrolltiere von der I. zur II. Untersuchung, gegenüber der beträchtlich geringeren Erhöhung bei den Versuchstieren. Das gilt, wie man sieht, sowohl für die Aldolase- als auch für den SGPT-Test. Die anschaulich deutlichen Unterschiede in den Anstiegen zwischen den Versuchstieren einerseits, den Kontrolltieren andererseits konnten mit statistischen Prüfverfahren durchweg als hoch gesichert ausgewiesen werden. Vgl. dazu die allseitigen Signifikanzbetrachtungen in Abschnitt III, 5, S. 45 ff., besonders Abb. 14, Seite 47.

Die stürmische Entwicklung der toxischen Leberschädigung bei den unbehandelten Kontrolltieren wird bei den mit Revitorgan behandelten Versuchstieren offenbar gebremst. Diese Wirkung darf zweifelsfrei dem Therapeutikum zugeschrieben werden. Das Ergebnis des Hauptversuches mit Phosphoröl muß als eindeutig positive Beantwortung der zu Beginn der Experimente gestellten Frage nach der Wirksamkeit des Revitorganpräparates Nr. 63 gewertet werden.

Die mit Phosphoröl erzielte Leberschädigung hat jedoch einen Nachteil: die aus den Versuchen resultierenden Erstreckungsbereiche auf der Fermentaktivitätsskala sind recht ausgedehnt, und für das Einzeltier kann der Leberschaden kaum derart eingegrenzt werden, daß die Bedingung der Reproduzierbarkeit erfüllt ist.

Um in dieser Richtung bessere Bedingungen herzustellen und um gleichzeitig die Ergebnisse des ersten Hauptversuchs zu kontrollieren, führten wir eine weitere Versuchsserie durch, in der wir die toxische Schädigung durch Tetrachlorkohlenstoff setzten.

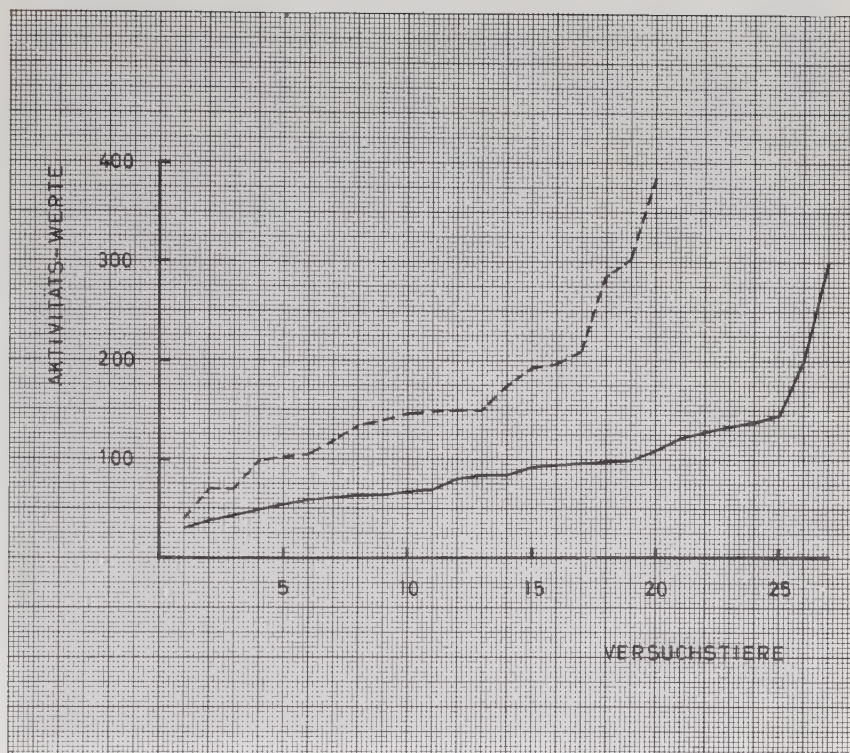


Abb. 2

Aldolase-Test

Durchgezogene Linie = I. Untersuchung,

gestrichelte Linie = II. Untersuchung.

Auf der Ordinate ist die Fermentaktivitäts-skala, - auf der Abszisse sind die am Versuch beteiligten Tiere in fortlaufender Nummerierung abgetragen.

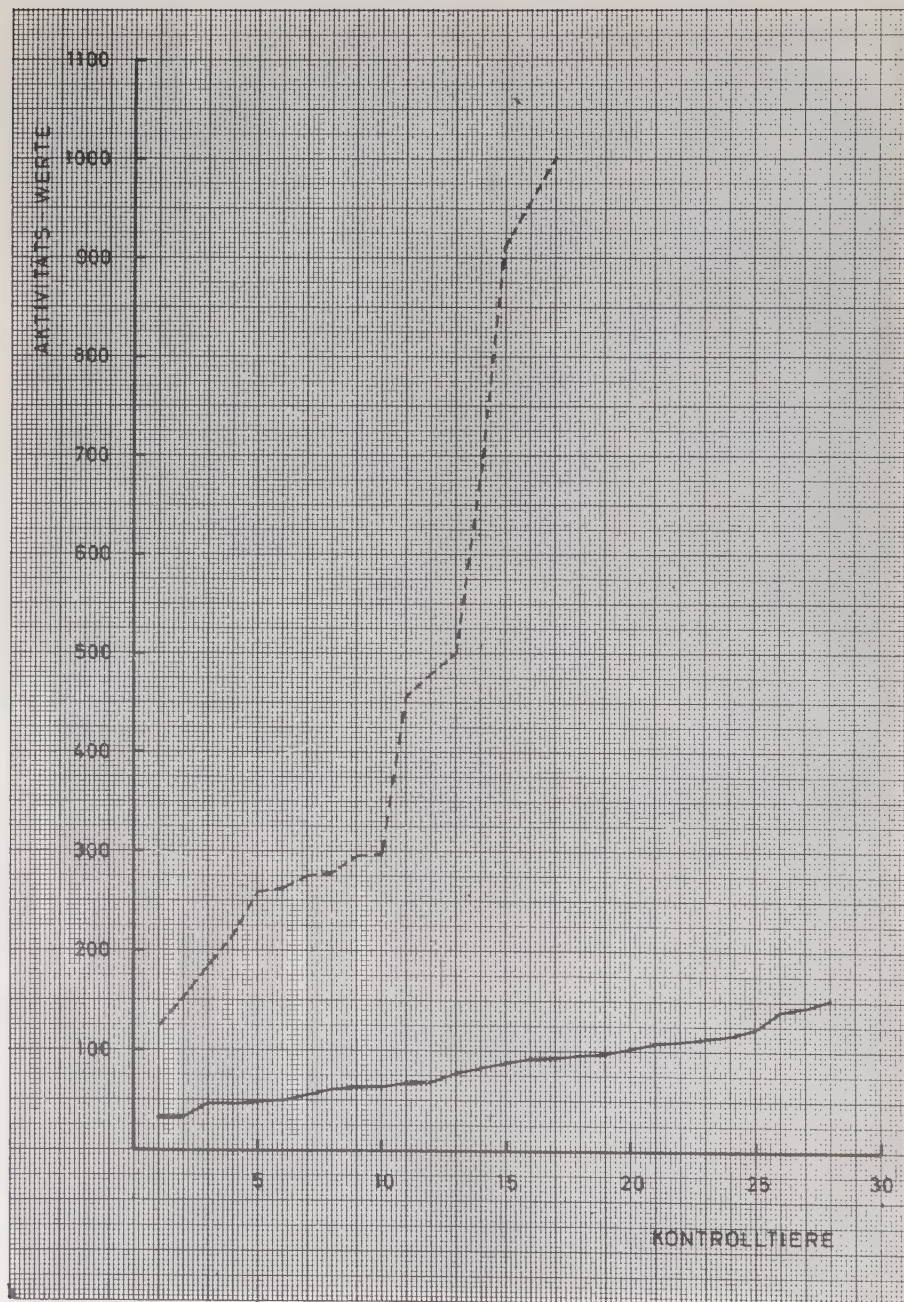


Abb. 3
Aldolase-Test
(Zu lesen wie Abbildung 2, Seite 27)

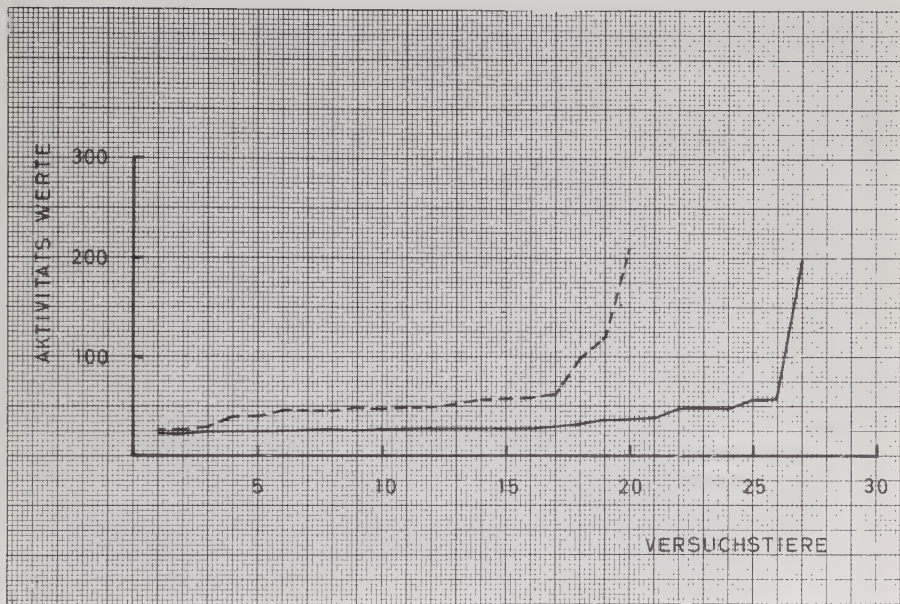


Abb. 4
SGPT-Test
(Zu lesen wie Abbildung 2, Seite 27)

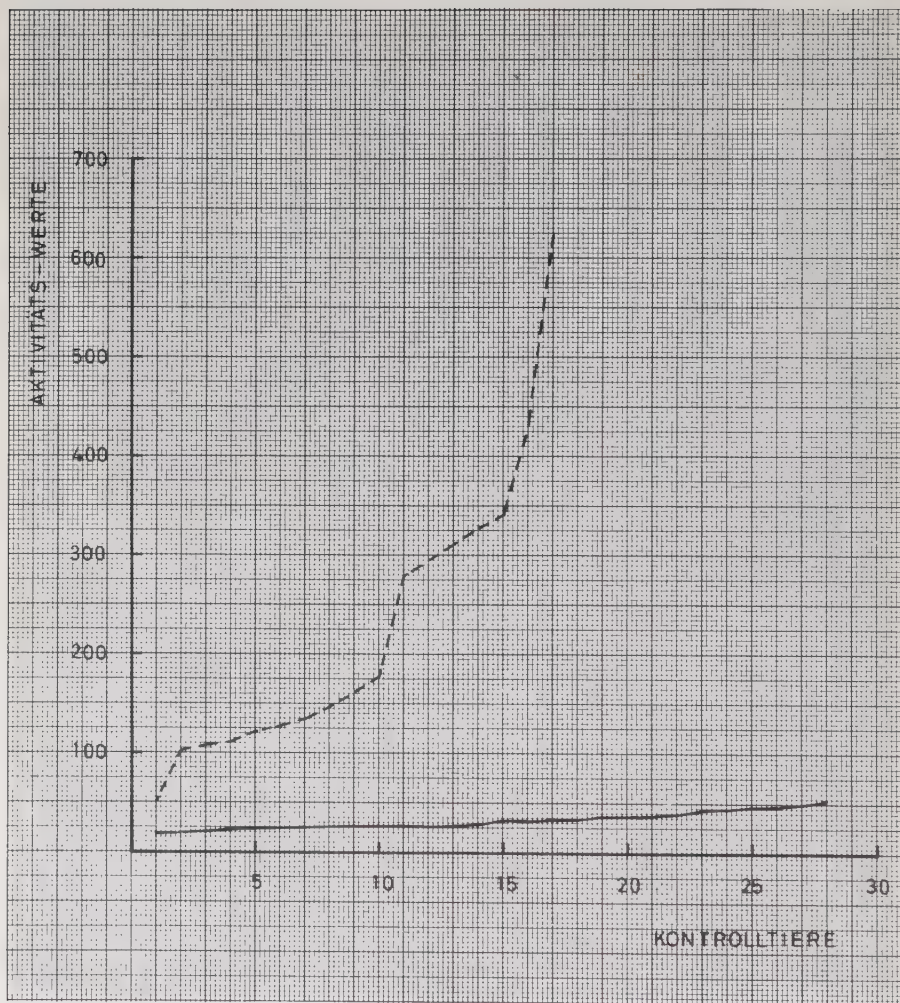


Abb. 5
SGPT-Test
(Zu lesen wie Abbildung 2, Seite 27)

3. Vorversuche mit Tetrachlorkohlenstoff

In Dosierungsversuchen mit Tetrachlorkohlenstoff war unter Anwendung verschiedener Applikationsarten eine Dosis zu finden, die einen reproduzierbaren Leberschaden bewirkt, ohne den Tod der Versuchsratten zur Folge zu haben.

Erster Dosierungsversuch. - 5 Ratten wurde 1 ccm Tetrachlorkohlenstoff sc. injiziert. Es traten nach der Injektion leichte Narkoseerscheinungen auf. Am folgenden Tag zeigten struppiges Fell, Hocken in den Ecken, schlechte Futter- und Wasseraufnahme einen schlechten Allgemeinzustand an, der sich 2 Tage nach der Injektion normalisierte. Alle Versuchstiere zeigten an der Injektionsstelle eine ödematöse Geschwulst, aus der nach Eröffnen eine Flüssigkeit trat, die stark nach Tetrachlorkohlenstoff roch. Daraus kann geschlossen werden, daß Tetrachlorkohlenstoff nicht, oder nur in geringem Maße resorbiert wurde. Dieser Verdacht bestätigte sich durch die Fermentaktivitätsbestimmung, die 20 Stunden nach der Injektion vorgenommen wurde. Dieser Zeitpunkt für die Untersuchung wurde gewählt in Anlehnung an BRUNS (4), der nach 18 - 20 Stunden maximale Werte erhalten hatte. Die nur sehr gering erhöhten Aktivitätswerte - wir beschränkten uns in den Vorversuchen auf die Aldolase - zeigt Tabelle 21.

Tier Nr.	Aldolase- Werte
1	60
2	68
3	81
4	103
5	79

Tab. 21

Zweiter Dosierungsversuch. - Wir verabreichten den Tetrachlorkohlenstoff in Olivenöl (1 g CCl_4 in 1 ccm Olivenöl) oral mit Hilfe einer Sonde. Es wurde dabei der kleinste Hundekatheter benutzt. Am Versuch waren 10 Ratten beteiligt, die jeweils 1,5 ccm der Lösung erhielten. Nach ca. 2 Stunden traten Narkoseerscheinungen auf, die sich jedoch am nächsten Tag verloren.

Tier Nr.	Nach 19 Std.	Nach 74 Sdt.
1	46	67
2	50	60
3	65	62
4	63	99
5	93	104
6	106	65
7	76	73
8	210	118
9	99	77
10	172	+

Tab. 22

Wir bestimmten die Aldolaseaktivität nach 19 Stunden und - an den gleichen Tieren - nach 74 Stunden. Die erhaltenen Werte sind aus Tab. 22 zu ersehen. Tier Nr. 10 starb bei der zweiten Punktion, die Leber war geringgradig verändert. Die nach 19 Stunden gemessenen Werte gehören zum Teil noch dem Normbereich an, zum Teil sind sie mehr oder weniger erhöht. Nach 74 Stunden sind die bei der ersten Untersuchung niedriger liegenden Werte geringgradig erhöht, die höher gelegenen gesunken. Der Befund der Bilirubinproben war in allen Fällen negativ. Auch in diesem Versuch ist es also nicht gelungen, einen sich in den Fermentaktivitätswerten eindeutig spiegelnden Leberschaden zu erzielen.

Dritter Dosierungsversuch. - 10 Tieren wurde 1,5 ccm der Lösung intraperitoneal injiziert. Die Versuchstiere fielen noch während der Injektion in eine Art Narkose, die Atmung war auffallend schwer. Nach vier Stunden starben zwei Ratten, im Laufe weiterer zehn Stunden nochmals vier. Die Überlebenden zeigten nach 20 Stunden die in Tab. 23 enthaltenen Werte. Die Prüfung auf Bilirubin verlief negativ.

Tier Nr.	Aldolase-Werte
1	83
2	165
3	181
4	62

Tab. 23

Vierter Dosierungsversuch. - 5 Ratten wurde 1 ccm der Lösung intraperitoneal injiziert. 4 Tiere verendeten innerhalb von 15 Stunden. Die Leber dieser Tiere zeigte makroskopisch nur sehr geringgradige Veränderungen. Bei der überlebenden Ratte wurde nach 20 Stunden eine Aldolaseaktivität von 706 Einheiten gemessen. Sie starb bei der Punktion. Die Leber war hochgradig verändert, Bilirubin im Harn ließ sich jedoch nicht nachweisen.

Fünfter Dosierungsversuch. - 5 Ratten wurde 0,5 ccm der Lösung intraperitoneal injiziert. 3 Ratten gingen innerhalb von 8 Stunden ein. Bei der

Aldolase-Werte		
Tier Nr.	Nach 20 Std.	Nach 40 Std.
1	290	106
2	346	109

Tab. 24

Sektion dieser Tiere erschien die Leber makroskopisch verändert. Die beiden überlebenden Tiere zeigten ein schlechtes Allgemeinbefinden. Ihre Aktivitätswerte wiesen von der ersten Untersuchung nach 20 Stunden zur zweiten Untersuchung nach 40 Stunden einen Abfall (s. Tab. 24) auf. Die Bilirubinproben waren negativ.

Sechster Dosierungsversuch. - 5 Ratten wurde 0,25 ccm der Lösung intraperitoneal injiziert. Die Narkoseerscheinungen traten nicht, wie in

Aldolase-Werte		
Tier Nr.	Nach 20 Std.	Nach 40 Std.
1	132	72
2	119	87
3	187	103
4	225	99
5	237	98

allen vorhergehenden Versuchen, sofort auf. Die Versuchstiere liefen zunächst noch lebhaft umher. Erst nach etwa 10 Minuten wurden die Bewegungen langsamer, bis sie schließlich aufhörten. Nach weiteren 20 Minuten war der Allgemeinzustand wieder normal. In diesem Versuch waren keine Tierverluste zu verzeichnen. Die Aktivitätswerte nach 20 und 40 Stunden sind aus Tab. 25 zu entnehmen. Die Bilirubinprobe war in allen Fällen negativ.

Tab. 25

Wir glaubten, damit eine für unsere Zwecke geeignete Dosierung gefunden zu haben. Die Dosis wurde - da 0,25 ccm ohne jede Komplikation vertragen wurde - auf 0,3 ccm aufgerundet und im folgenden Hauptversuch mit Tetrachlorkohlenstoff verwendet.

4. Zweiter Hauptversuch

Im Hauptversuch verabreichten wir Tetrachlorkohlenstoff intraperitoneal in der Dosis 0,3 ccm (1 g CCl_4 in 1 ccm Olivenöl). Den Versuchstieren wurde gleichzeitig (d. h. unmittelbar nach erfolgter Tetrachlorkohlenstoffinjektion) das Revitorganpräparat Nr. 63 unter Verwendung des Lösungsmittels Stärke II in der Dosierung 0,4 ccm i.m. gegeben.

Etwa 10 Minuten nach den Injektionen traten bei beiden Gruppen (Versuchs- und Kontrolltiere) Narkoseerscheinungen auf: Torkeln, Umfallen, dann nur noch Kriechbewegungen und schließlich Plattliegen. Das Fell war stark gesträubt. Nach weiteren 20 Minuten waren die Erscheinungen verschwunden, die Tiere bewegten sich lebhaft und zeigten wieder glattes Fell.

Wir erweiterten die Versuchsanordnung gegenüber derjenigen des Hauptversuchs

mit Phosphoröl um eine weitere Stufe, indem wir eine dritte Fermentaktivitätsbestimmung einführten. Die Untersuchungstermine waren:

- I. Untersuchung: 20 Stunden p. intoxic.
- II. Untersuchung: 40 Stunden p. intoxic.
- III. Untersuchung: 66 Stunden p. intoxic.

Am Hauptversuch mit Tetrachlorkohlenstoff waren insgesamt 40 Tiere beteiligt.

Davon wurden 20 Tiere (10 Versuchstiere, 10 Kontrolltiere) der I. und II. Untersuchung unterzogen. Da drei Herzpunktionen am gleichen Tier in einem so knappen Zeitraum nicht vorgenommen werden können, mußten wir für die dritte Aktivitätsmessung neue Tiere nehmen. So wurden für die III. Untersuchung 20 weitere Tiere (10 Versuchstiere, 10 Kontrolltiere) mit Tetrachlorkohlenstoff bzw. Revitorgan behandelt und erstmals nach 66 Stunden untersucht.

Es liegen also aus diesem Hauptversuch auf Einzeltiere bezogen lediglich Werte aus zwei Untersuchungen vor, - für die Kollektivbetrachtung jedoch aus drei Untersuchungen.

Die aus den Versuchen resultierenden Aldolase- und SGPT-Werte sind in Tab. 26, S. 36 und Tab. 27, S. 37 zusammengestellt, und zwar in der gleichen Anordnung wie in den entsprechenden Tabellen des Hauptversuchs mit Phosphoröl⁺. Tab. 26 und Tab. 27 sind also zu lesen wie Tab. 19 und 20 auf Seite 24 und 25.

Für die II. Untersuchung sind auch hier unter der Rubrik "Tier Nr." die Rangnummern der I. Untersuchung angegeben, während für die III. Untersuchung wiederum nur fortlaufend numeriert werden konnte, da es sich, wie gesagt, um andere Tiere handelte.

+ Die Bilirubinproben waren, wie bei den verhältnismäßig schwachen Schädigungen des Tetrachlorkohlenstoffversuchs zu erwarten, sämtlich negativ.

ALDOLASE-WERTE							
I. Untersuchung				II. Untersuchung			
Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere	Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere
1	93	1	135	9	67	3	76
2	96	2	135	1	69	5	78
3	102	3	141	2	72	4	92
4	113	4	153	3	83	1	98
5	118	5	167	4	85	2	102
6	118	6	174	5	89	7	106
7	124	7	199	6	90	8	140
8	126	8	234	7	109	9	198
9	130	9	398	10	112	6	+
10	145	10	+	8	+	10	+
D = 116,5		D = 192,9		D = 86,2		D = 111,3	
III. Untersuchung							
Tier Nr.	Versuchstiere	Tier Nr.	Kontrolltiere				
1	44	1	50				
2	44	2	65				
3	48	3	67				
4	50	4	73				
5	50	5	76				
6	50	6	85				
7	55	7	85				
8	62	8	86				
9	70	9	96				
10	77	10	100				
D = 55,0		D = 78,3					

Tab. 26

SGPT - Werte							
I. Untersuchung				II. Untersuchung			
Tier Nr.	Versuchs-tiere	Tier Nr.	Kontroll-tiere	Tier Nr.	Versuchs-tiere	Tier Nr.	Kontroll-tiere
1	35	1	45	8	20	3	20
2	36	2	50	5	24	4	30
3	38	3	52	10	28	2	35
4	44	4	52	4	32	5	37
5	45	5	56	6	34	7	38
6	45	6	62	3	37	1	45
7	45	7	85	7	37	6	45
8	47	8	100	9	45	9	119
9	47	9	162	2	45	8	+
10	50	10	+	1	+	10	+
D = 43,2		D = 73,9		D = 33,6		D = 46,1	
		III. Untersuchung					
		Tier Nr.	Versuchs-tiere	Tier Nr.	Kontroll-tiere		
		1	20	1	25		
		2	25	2	27		
		3	28	3	28		
		4	28	4	29		
		5	28	5	30		
		6	32	6	32		
		7	32	7	34		
		8	34	8	40		
		9	35	9	45		
		10	37	10	47		
		D = 29,9		D = 33,7			

Tab. 27

In Abb. 6, 7, 8 und 9 auf Seite 38, 39, 40 und 41 sind die Wertereihen graphisch dargestellt.

Auffallend ist das klarere Kurvenbild bei den Aldolase-Werten, bei den SGPT-Werten sind Überschneidungen zu verzeichnen. Vgl. dazu S. 48.

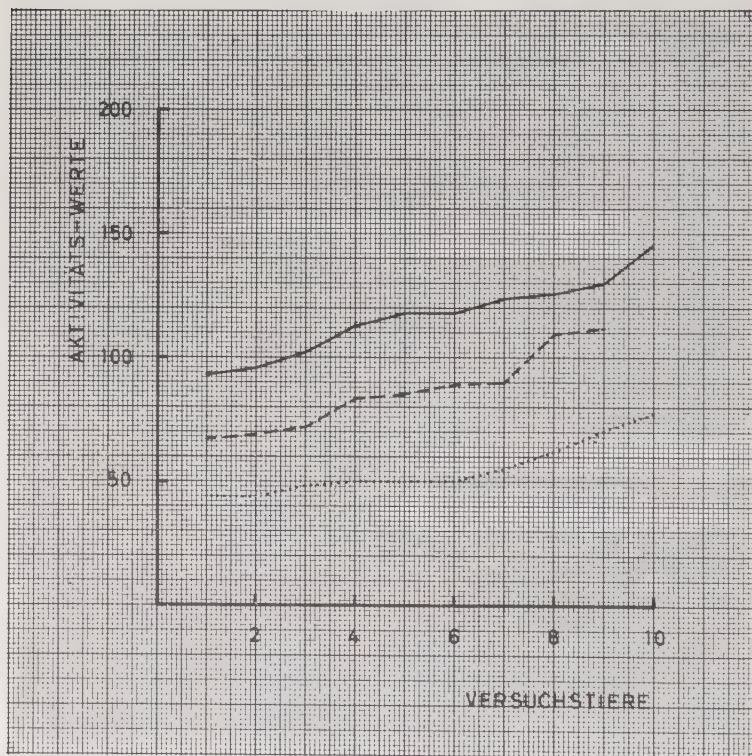


Abb. 6

Aldolase-Test

Durchgezogene Linie = I. Untersuchung,

gestrichelte Linie = II. Untersuchung,

punktierte Linie = III. Untersuchung.

Auf der Ordinate ist die Fermentaktivitäts-skala, - auf der Abszisse sind die am Versuch beteiligten Tiere in fortlaufender Nummerierung abgetragen.

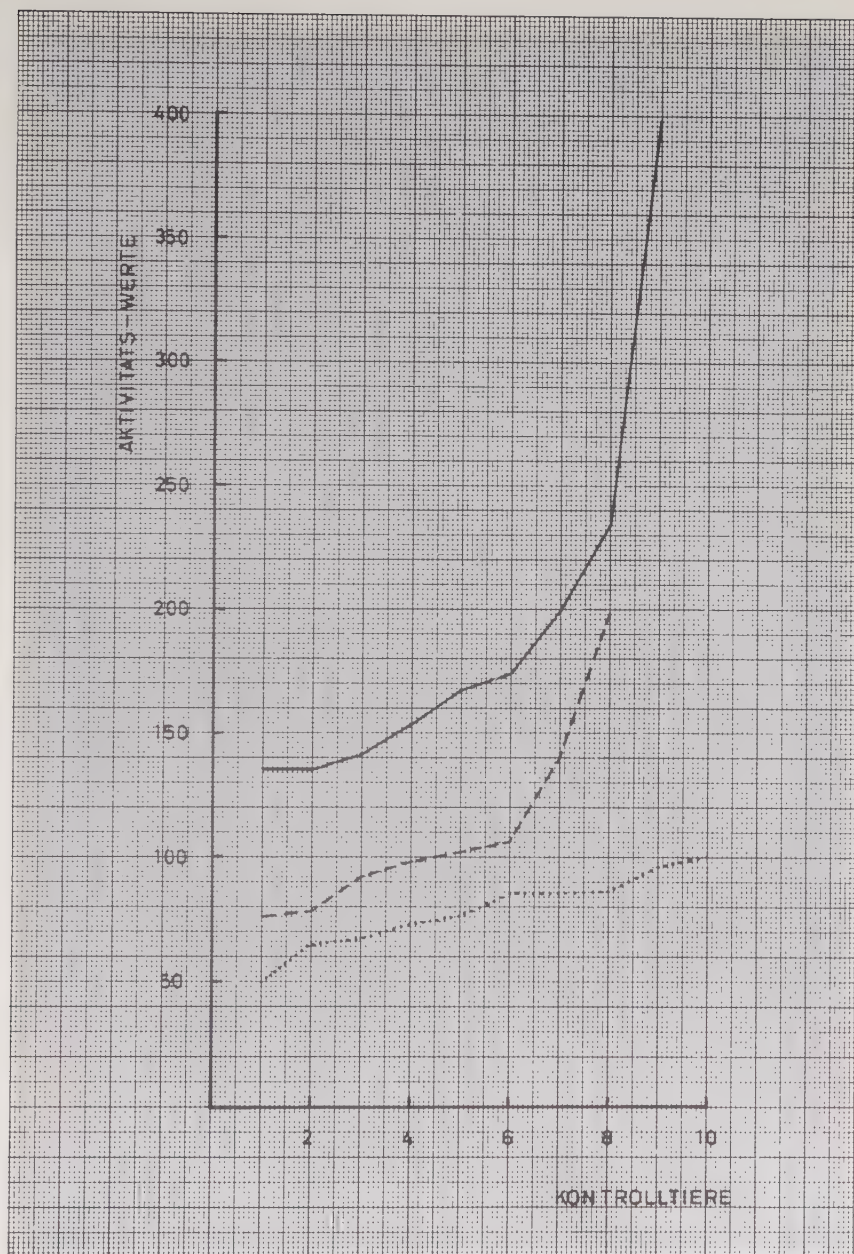


Abb. 7
Aldolase-Test
(Zu lesen wie Abbildung 6, Seite 38)

Bereits in der I. Untersuchung findet sich ein hoch signifikanter Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren. In der III. Untersuchung zeigt sich, daß die Versuchstiere unter dem Einfluß des Revitorganpräparats wieder völlig normale Werte erreicht haben, während die Kontrolltiere immer noch eindeutig über dem Normbereich (vgl. Tab. 3, a und b, S. 12) liegen. Die beobachteten Unterschiede sind durchweg statistisch hoch gesichert (vgl. S. 45 ff.). Im ganzen gesehen handelt es sich um analoge Ergebnisse wie im Hauptversuch mit Phosphoröl, der dadurch weiter abgesichert wird.

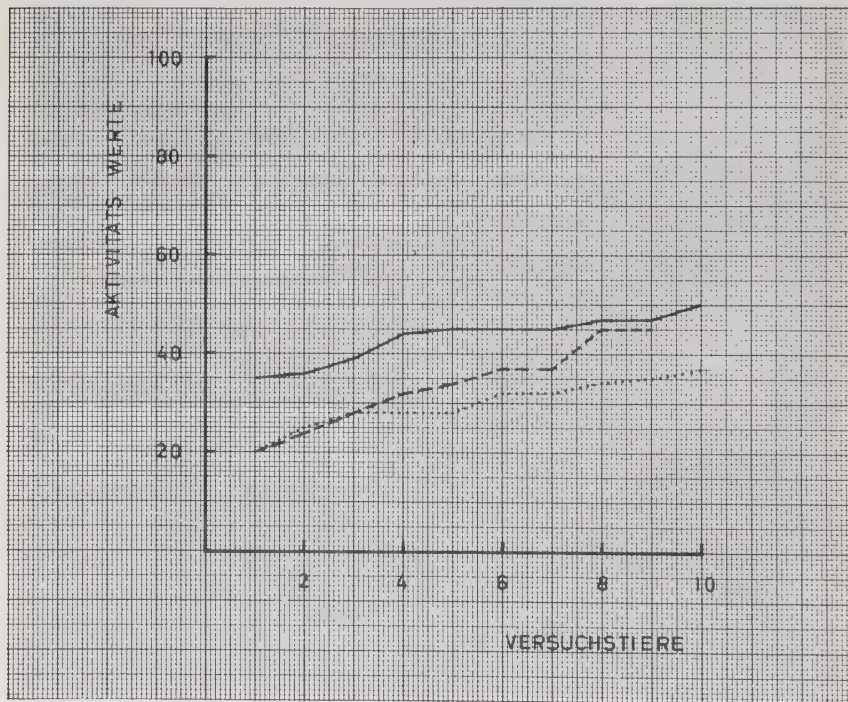


Abb. 8
SGPT-Test
(Zu lesen wie Abbildung 6, Seite 38)

Die vergleichende Betrachtung der aus den Tabellen zu entnehmenden Erstreckungsbereiche auf der Fermentaktivitätsskala für den ersten Hauptversuch einerseits, für den zweiten Hauptversuch andererseits zeigt, daß diese Bereiche im Hauptversuch mit Tetrachlorkohlenstoff in sich geschlossener, klarer gegeneinander abgegrenzt und gegen den jeweiligen Normbereich eindeutiger abgehoben sind. Es darf daraus gefolgert werden, daß die Intoxikation mit Tetrachlorkoh-

lenstoff gegenüber derjenigen mit Phosphoröl einen experimentell schärfer faßbaren Leberschaden erzeugt, der damit die Forderung nach Objektivierbar-

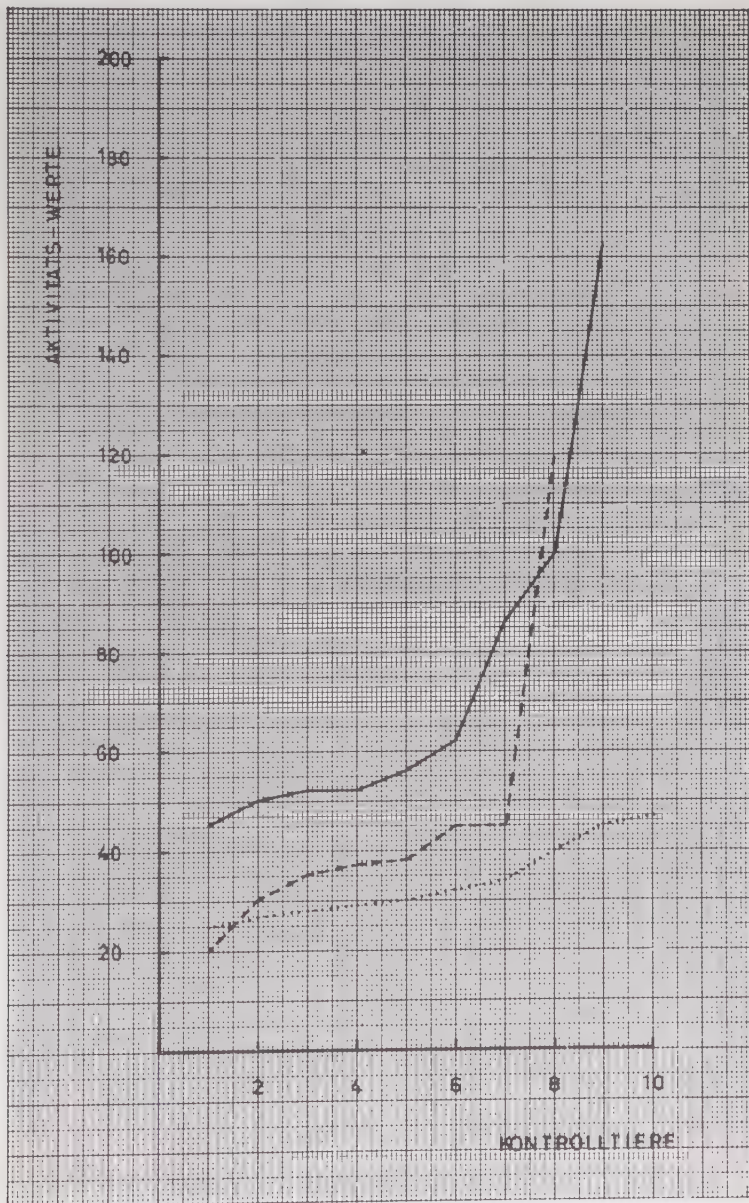


Abb. 9
SGPT-Test

(Zu lesen wie Abbildung 6, Seite 38)

keit und Reproduzierbarkeit besser erfüllt.

Die auf Seite 31 ausgesprochene Erwartung, durch die Schädigung mit Tetrachlorkohlenstoff über die Kollektivbetrachtung hinaus auch Aussagemöglichkeiten über den Intoxikationsverlauf beim Einzeltier aufzuzeigen, wurde ebenfalls nicht enttäuscht. Um diese Möglichkeit zu demonstrieren, haben wir in Abb. 10, 11, 12 und 13, S. 42, 43, 44 und 45 die in den beiden Hauptversuchen aus der jeweils I. und II. Untersuchung gewonnenen Aldolase-Werte in graphischen Darstellungen einander gegenübergestellt. Und zwar in der Weise,

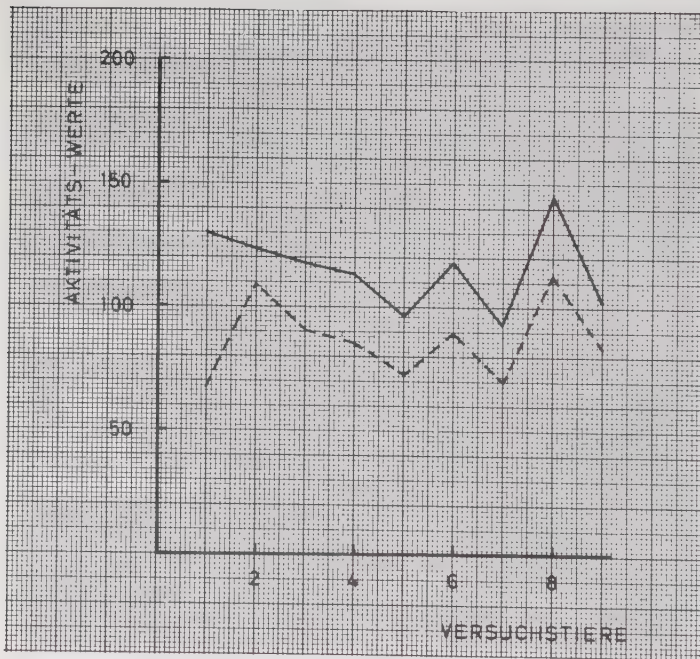


Abb. 10
Aldolase-Test

Hauptversuch mit Tetrachlorkohlenstoff

Durchgezogene Linie = I. Untersuchung,
gestrichelte Linie = II. Untersuchung.
Auf der Ordinate ist die Fermentaktivitäts-
skala, - auf der Abszisse sind die Tiere
nach der Abfolge in den Versuchen abgetragen.

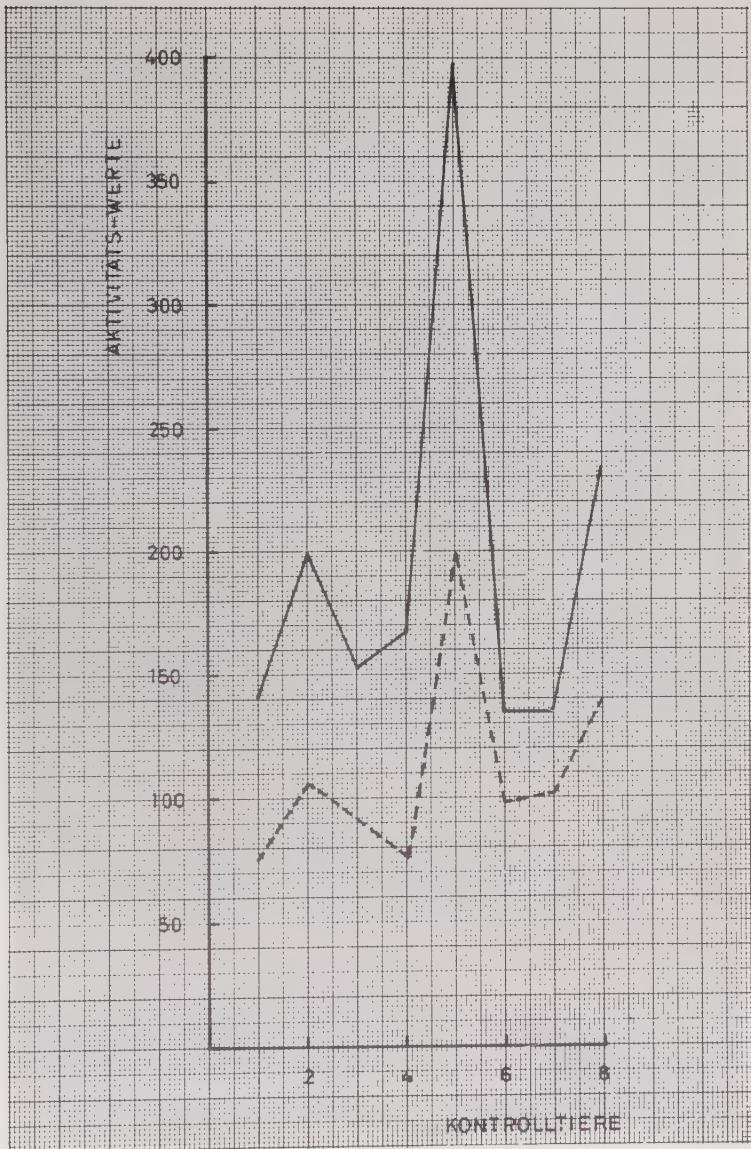


Abb. 11
Alsolase-Test
Hauptversuch mit Tetrachlorkohlenstoff
(Zu lesen wie Abbildung 10, Seite 42)

daß auf der Abszisse die Tiere in der zufälligen Abfolge abgetragen wurden, in der sie am Versuch teilgenommen hatten⁺. Die ihnen zugehörigen Aktivitätswerte aus I. und II. Untersuchung wurden dann über dem jeweils gleichen Punkt der Abszisse eingezeichnet.

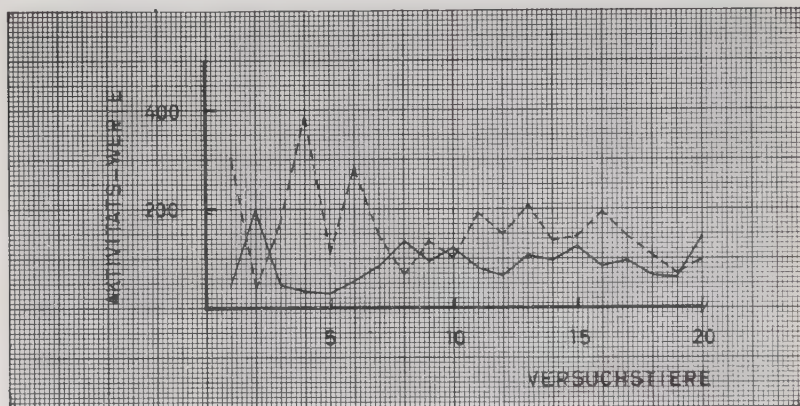


Abb. 12
Aldolase-Test
Hauptversuch mit Phosphoröl
(Zu lesen wie Abbildung 10, Seite 42)

Die so entstandenen Kurven sind im Falle der Tetrachlorkohlenstoffschädigung ihrem Verlauf nach einander außerordentlich ähnlich. Bereits diese wenigen Fälle lassen vermuten, daß der Regenerationsprozeß nach Intoxikation mit Tetrachlorkohlenstoff wahrscheinlich sehr stetig verläuft. Auf die Einzeltiere bezogen scheint die Fermentaktivität um relativ konstante Beträge abzunehmen.

Starke Schwankungen und Überschneidungen in den entsprechenden Kurvenbildern der Phosphorölserie zeigen, daß mit dieser Methode ein lediglich der Kollektivbetrachtung zugänglicher, für den Einzelfall jedoch nicht mit Sicherheit prognostizierbarer Leberschaden zu erzielen ist.

(Abbildung 13 s. S. 45)

+ Die während des Versuchs verwendeten Tiere konnten selbstverständlich nicht mit in den Vergleich einbezogen werden.

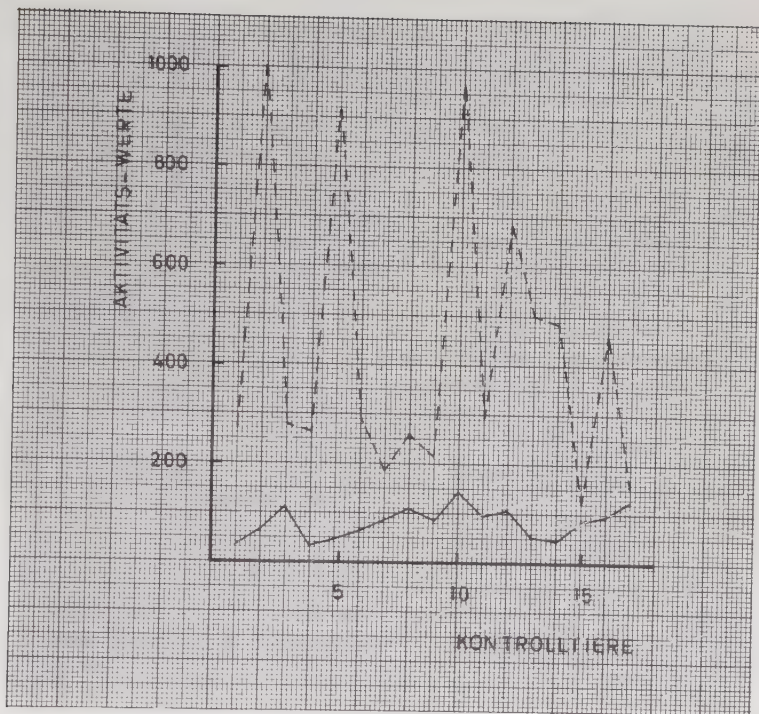


Abb. 13
Aldolase-Test
Hauptversuch mit Phosphoröl
(Zu lesen wie Abbildung 10, Seite 42)

5. Signifikanzbetrachtung

Die statistische Bearbeitung unseres Materials galt der Frage: sind die beobachteten Differenzen der Mittelwerte (und damit der zugehörigen Versuchsgruppen) überzufällig, d. h. größer als die bei zufälliger Verteilung der Wertereihen zu erwartenden Unterschiede? Es war also zu entscheiden, für welche unserer Fälle die Nullhypothese (= kein Unterschied) zu bestätigen bzw. zu verwerfen war.

Die klassischen Verfahren der Signifikanzbetrachtung beruhen nun aber auf einer Reihe von Voraussetzungen, deren Vorhandensein allein die Anwendung legitimiert (ZIMMERMANN (20)). Die hier geforderte Normalverteilung und die gleiche Streuung konnten wir für unsere Wertereihen nicht unterstellen. Wir griffen deshalb zu Prüfmethode, die unter der Bezeichnung "verteilungsfrei" oder "nicht-parametrisch" entwickelt worden sind. Bei diesen Verfahren ist die Kenntnis der Verteilungsfunktion und der Parameter (Mittelwert, Streuung, Schiefe, Exzeß usw.) ohne Belang. Wir führten die Berechnung der Signifikanzen mit dem X-Test - bzw. in einigen Fällen mit dem Zeichentest - nach VAN DER WAERDEN und NIEVERGELT (17) durch.

Die Resultate für die Versuchsserie mit Phosphoröl einerseits, die Versuchsserie mit Tetrachlorkohlenstoff andererseits sind - gesondert für den Aldolase-Test und den SGPT-Test - jeweils in einer Matrix zusammengestellt, die den Vergleich aller Wertereihen untereinander erlaubt (vgl. Abb. 14a, b, c und d, S. 47). Die Einträge oberhalb der Diagonalen beziehen sich auf die zweiseitige, - diejenigen unterhalb der Diagonalen auf die einseitige Betrachtungsweise.

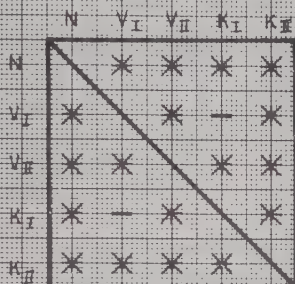
Einseitige Anwendung des X-Tests (bzw. des Zeichentests) heißt: es soll lediglich geklärt werden, ob die x (= Werte der einen Vergleichsgruppe) im allgemeinen größer sind als die y (= Werte der anderen Vergleichsgruppe). Zweiseitige Anwendung heißt: es soll geklärt werden, ob die x in Bezug auf die y größer, gleich oder kleiner sind.

Bei einseitiger Betrachtungsweise bedeutet hohe Signifikanz: der Unterschied ist gesichert mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,5 %. Schwache Signifikanz = Irrtumswahrscheinlichkeit von 2,5 %. - Bei zweiseitiger Betrachtungsweise: hohe Signifikanz = Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 %. Schwache Signifikanz = Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

Bei den Gruppenvergleichen in unserer Untersuchung schien durchweg die einseitige Betrachtungsweise sinnvoll, in einigen Fällen allerdings auch die zweiseitige, wie z.B. bei der Signifikanzbetrachtung für N gegen V_{III} (vgl. Abb. 14c und d, S. 47). Denn es war hier durchaus als offen anzusehen, ob die Aldolase- bzw. SGPT-Werte zum Zeitpunkt der III. Untersuchung durch das Therapeutikum entweder bis auf oder gar unter den Normbereich gesenkt worden waren, oder ob sie eben doch noch signifikant höher lagen.

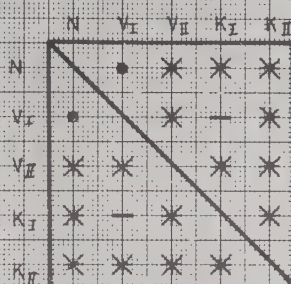
Die Analyse der Signifikanz-Tableaus läßt übrigens eine deutliche Überlegenheit des Aldolase-Tests gegenüber dem SGPT-Test zutage treten, die auch

VERSUCHSSERIE MIT PHOSPHORÖL



Aldolase-Test

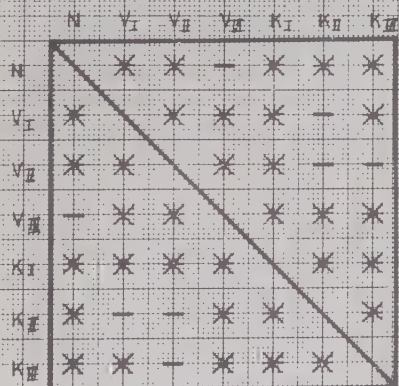
(a)



SGPT-Test

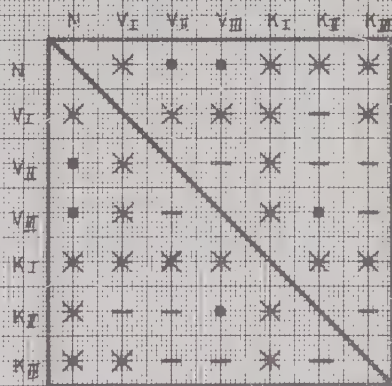
(b)

VERSUCHSSERIE MIT TETRACHLORKÖHLENSTOFF



Aldolase-Test

(c)



SGPT-Test

(d)

- * Hoch signifikant
- Schwach signifikant
- Kein Unterschied

Abb. 14

- N = Normwerte
- V_{I, II, III} = Versuchstiere der I., II., III. Untersuchung
- K_{I, II, III} = Kontrolltiere der I., II., III. Untersuchung

bei oberflächlicher Betrachtung der Abbildung 14, Seite 47 bereits evident wird: Der Aldolase-Test zeigt tatsächliche Unterschiede auch dort noch mit hoher Signifikanz an, wo der SGPT-Test nur schwach gesicherte oder gar keine Unterschiede ausweist. Inwieweit sich diese Erfahrung verallgemeinern läßt, wagen wir nicht zu entscheiden, immerhin sollte bei methodisch ähnlicher experimenteller Anordnung dieser Hinweis u. E. genützt werden.

IV. BETRACHTUNG DER ERGEBNISSE

Die gezielten Experimente der vorliegenden Untersuchung stehen - wie in der Einleitung ausgeführt - unter der übergreifenden Thematik, Möglichkeiten und Grenzen der sog. Zellulärtherapie in Tierversuchen aufzuweisen. Über die Wirkungsweise dieser Therapieform wird nach wie vor wissenschaftlich diskutiert.

Zur Frage der Wirksamkeit zellspezifischer Substanzen bei der intakten und geschädigten Rattenleber liegen bereits verschiedene Arbeiten vor.

So fand TEIR - nach LETTRE (11) - daß die mitotische Aktivität der Rattenleber nach Injektion von Leberzellaufschwemmungen zwei Wochen alter Ratten deutlich zunimmt.

MARSHAK - nach LETTRE (11) - konnte an der sich regenerierenden Rattenleber zeigen, daß Injektion von Chromatin aus Rattenleber Wachstum und Teilung der Zellen beschleunigen. Vgl. auch S. 9.

STÖWOR (13) wies durch Kernzählungen und -messungen nach, daß bei phosphoreschädigten Ratten die Neubildung von Zellen nach Behandlung mit Trokenzellpräparaten intensiver verläuft.

HÖTZL u. LAUDAHN (8) und LAUDAHN u. LÜDERS (9) berichten von einer histologisch nachweisbaren prophylaktischen und therapeutischen Wirksamkeit von Lebermitochondrien, die, parenteral als Suspension zugeführt, den durch gleichzeitige Verabreichung von Tetrachlorkohlenstoff hervorgerufenen Leberschaden zu unterdrücken in der Lage seien. CCl_4 12 Stunden p. intox. gegeben, führte zu einer Abschwächung des Schadens. Die Autoren betonen die therapeutische Überlegenheit der Mitochondrien gegenüber Leberhydrolysaten, -autolysaten und Kernsubstanzen und führen die Wirkung auf eine Substitution der geschädigten Fermentsysteme zurück.

Auf Anregung von HÖTZL, LAUDAHN und LÜDERS führte MÜLLER (12) einen analogen Versuch an 19 Hunden (13 Versuchstiere, 6 Kontrolltiere) durch, konnte jedoch weder eine prophylaktische noch eine therapeutische Wirkung isolierter Leberzellmitochondrien, als Suspension bzw. Hydrolysat parenteral verabreicht, auf die Tetrachlorkohlenstoffintoxikation der Leber feststellen. MÜLLER benutzte u. a. auch das von uns verwendete Verfahren der Fermentaktivitätsbestimmung.

Unsere eigenen, im Anschluß an FISCHER (5) mit dem zystoplasmatischen Präparat Revitorgan Nr. 63 durchgeführten Experimente an der mit Phosphor bzw. Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Rattenleber stellen ausnahmslos eine Bestätigung der von anderen Untersuchern berichteten positiven Erfahrungen mit zellspezifischen Substanzen dar.

Die Fermentaktivitätsbestimmung erwies sich als ein methodisch hervorragendes Messverfahren, das es erlaubt, toxische Leberschädigungen quantitativ scharf zu erfassen und therapeutische wie prophylaktische Wirkungen zellspezifischer Präparate eindeutig nachzuweisen.

Die Gruppenvergleiche ergeben durchgehend signifikant geringgradigere Leberschädigungen bei den mit Revitorgan behandelten Versuchstieren gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren. Über die Kollektivbetrachtung hinaus deuten sich mit der Fermentaktivitätsmessung auch Möglichkeiten für die Prognostik des Einzelfalles an (vgl. S. 42 ff.).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung scheinen uns insoweit verallgemeinerungsfähig, als damit bestimmte kritische Stellungnahmen gegen die Zellulärtherapie (vgl. S. 1) als gegenstandslos angesehen werden müssen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Frage gestellt: Kann ein objektivierbarer, reproduzierbarer Organschaden zellulärtherapeutisch beeinflußt werden ?

Ein in Tierversuchen mit Phosphor bzw. Tetrachlorkohlenstoff gesetzter Leberschaden wird auf einer metrischen Skala (Fermentaktivitätsbestimmung) abgebildet.

Die Wirkung des unter experimentellen Bedingungen als Therapeutikum eingeführten zytoplasmatischen Präparats Revitorgan Nr. 63 wird auf diese Weise meßbar.

Der Vergleich zwischen mit Revitorgan behandelten Versuchstieren und unbehandelten Kontrolltieren zeigt eine überzufällige, statistisch hoch gesicherte günstige Beeinflussung der toxischen Schädigung.

Die Wirksamkeit zellspezifischer Substanzen ist damit eindeutig nachgewiesen. Die grundsätzlichen Einwände gegen die Zellulärtherapie können auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung als prinzipiell widerlegt angesehen werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Bruns, F.: Bestimmung und Eigenschaften der Serumaldolase.
 Biochem.Z., Bd.325, 1954, H.2

- (2) Bruns, F.: Über Esterasen, Nucleasen, glykolytische Fermente
 und Transaminasen des Blutserums.
 Clin.chim.Acta, Vol.2, 1957

- (3) Bruns, F. und Neuhaus, J.: Die Aktivität einiger Serum- und Leber-
 enzyme beim experimentellen Tetrachlorkohlenstoff-
 schaden der Maus.
 Biochem.Z., Bd.326, 1955

- (4) Bruns, F. und Puls, W.: Die Aktivität der Serumaldolase bei Erkran-
 kungen der Leber.
 Ein neuer enzymatischer Test.
 Klin.Wschr., 32.Jg., 1954, H.27/28

- (5) Fischer, G.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung
 zellspezifischer Substanzen auf die experimentell
 geschädigte Rattenleber.
 Inaugural-Dissertation, München 1960

- (6) Hess, B.: Über Fermente der Glykolyse und des Citronen-
 säurecyclus im menschlichen Serum insbesondere
 bei Erkrankungen der Leber.
 Verhandlungen d. Deutschen Gesellschaft f. innere
 Med. (63. Kongress), München 1957

- (7) Horn, H. D. und Amelung, D.: Die Bedeutung von Transaminasen-
 und Milchsäure-Bestimmung im Serum bei Leberer-
 krankungen.
 Dtsch.med.Wschr., 82, 1957

- (8) Hötzl, A. und Laudahn, G.: Therapie mit Mitochondrien.
 Ärztl.Wschr., 11, 1956

- (9) Laudahn, G. und Lüders, C.-J.: Die Wirkung isolierter Leberzell-mitochondrien auf den akuten Tetrachlorkohlenstoff-schaden der Rattenleber.
Virchows Arch., 329, 1957

- (10) Lettow, E.: Fermentdiagnostik des Tetrachlorkohlenstoffschadens der Leber des Hundes.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr.,
73.Jg., 1960

- (11) Lettré, H.: Prüfung der organspezifischen Wirkung von Zellinjektionen.
Therapiewoche, 5.Jg., 1954/55

- (12) Müller, F.: Therapieversuche mit Lebermitochondrien beim experimentellen Tetrachlorkohlenstoff-Schaden des Hundes.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr.
74.Jg., 1961, H.7

- (13) Stöwor, P.: Untersuchungen über die Einwirkungen von Niehans Trockenzellen auf regenerierendes Lebergewebe.
Dissertation, Giessen 1956

- (14) Theurer, K.: Die Spezifität von cytoplasmatischen Organsubstanzen unter besonderer Berücksichtigung solcher aus Placenta und die isolierte Anwendung ihres maternen und foetalen Anteils.
Therapiewoche, 7.Jg., 1956/57, H 11

- (15) Theurer, K.: Zum Problem der Dosierung bei der sogenannten Zellulärtherapie und über die Notwendigkeit der quantitativen Steuerung immunbiologischer Vorgänge.
Therapiewoche, 6.Jg., 1955/56, H.5/6

- (16) Ullrich, K.: Erfahrungen mit Zelltherapie bei Tieren.
Rotterdamse gesprekken over Celtherapie,
Leiden 1960
Hrsg. F. L. L. M. Merckelbach

- (17) Van der Waerden, B. L. und Nievergelt, E.: Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben mittels X-Test und Zeichentest. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956

- (18) Wolf, H. P., Forster, G. und Leuthardt, F.: Ein spezifischer Fermenttest zum Nachweis von Parenchymschädigungen der Leber. Gastroenterologia, Vol.87, 1957, No.3/4

- (19) Wroblewski, F. und LaDue, J.S.: Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Cardiac and Hepatic Disease. Proc.Soc.exp.Biol., N.Y., Vol.91, 1956

- (20) Zimmermann, K. F.: Kompendium der Variationsstatistik. Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1959

Herrn Professor Dr. K. Ullrich schulde ich Dank für die Überlassung des Themas und für seine in allen Phasen der Arbeit geduldige Betreuung.

Für hilfreiche Beratung in Fragen quantitativer Methodik danke ich Herrn Dipl.-Psych. R. Winkelmann, Tübingen.

Lebenslauf

Als Tochter des Dipl.-Ing. Georg Berns und seiner Ehefrau Lou, geb. Kalmes, wurde ich am 17. 3. 1935 in Döbeln/Sachsen geboren.

Nach der Volksschulzeit in Hamburg besuchte ich dort die Emilie-Wüstenfeld-Schule und die Walddörfer-Schule und bestand im Februar 1955 die Reifeprüfung.

Nach dem Studium in Hamburg, Wien, Hannover und München legte ich im Juli 1960 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das tierärztliche Staatsexamen ab.

